

DER EINFLUSS ÄTHANOLHALTIGER GETRÄNKE AUF DEN
PROPERDINSPIEGEL IM TIERVERSUCH

VON

HANS HERMANN BECKER

2

1963

DER EINFLUSS ÄTHANOLHALTIGER GETRÄNKE AUF DEN
PROPERDINSPIEGEL IM TIERVERSUCH

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Hohen Medizinischen Fakultät

der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von

HANS HERMANN BECKER

aus Worms

MAINZ

1961

Dekan: Prof. Dr. Dr. K. Wagner

Referent: Prof. Dr. H. Kliewe

Tag der mündlichen Prüfung: 24. Juni 1963



Gesamtherstellung: DITTERS BÜRODIENST, MAINZ
Augustinerstraße 64-66
Telefon 24293

INHALT

1. Einleitung und Ziel der Arbeit
2. Das Properdinsystem (kurzer literarischer Überblick)

EIGENE VERSUCHE

3. Material und Methoden
4. Besprechung der Ergebnisse
5. Diskussion
6. Zusammenfassung
7. Literatur

1. EINLEITUNG UND ZIEL DER ARBEIT

Properdin ist ein im Serum vorhandener Faktor von Proteincharakter, der von PILLEMER beschrieben wurde. Dieser Stoff ist zu dem sog. unspezifischen Abwehrsystem des Organismus in Beziehung gebracht worden. Neuerdings wird die Ansicht vertreten, daß es sich um einen im Laufe des Lebens erworbenen Abwehrstoff im Sinne eines Antikörpers bzw. von Antikörpern handelt. Besteht diese Annahme zu Recht, dann dürfte nicht mehr von einem unspezifischen Abwehrmechanismus gesprochen werden. Überhaupt ist es angebracht, den Begriff der Spezifität immunologischer Reaktionen weniger auf bestimmte Bakterien, Viren oder bestimmte Bakterientoxine zu beziehen, als vielmehr auf reaktive Gruppen von unter Umständen verschiedenen Substanzen. Auch die von PILLEMER u. v. a. beschriebene Fähigkeit des Properdins, Komplement zu binden, würde gut zu der Vorstellung passen, daß dieser Stoff ein Antikörper ist. In gleicher Weise könnte die Beobachtung gewertet werden, daß Properdin in Anwesenheit von Komplement und Magnesiumionen eine Funktion bei der Zerstörung vornehmlich gramnegativer Bakterien und bei der Neutralisation bestimmter Viren besitzt. Dieser Properdineffekt ist auch im Tierversuch in Abhängigkeit vom Serumproperdinspiegel demonstrierbar.

Unabhängig vom Wesen des Properdins ist in diesem Zusammenhang die Beeinflussung des Properdinblutspiegels durch bestimmte Genußstoffe von Bedeutung. HUSMANN, von GRAEVENITZ und SPUDAS sahen im Tierversuch mit Kaninchen, daß statistisch beweisende Titeranstiege auf etwa 100% des Ausgangswertes sowohl nach einmaliger als auch nach wiederholter peroraler Gabe von Wein bzw. Äthanol auftraten.

In neuerer Zeit wurde verschiedentlich die Frage diskutiert, inwieweit die sog. Hybridenweine einen von Äthanol bzw. von sog. Edelweinen verschiedenen Einfluß auf den Organismus haben. Hybridenweine sind Weine, die aus Trauben von Hybridenreben gewonnen werden. Letztere sind Kreuzungen aus europäischen Edel- und amerikanischen Wildreben. Sie sind also geschlechtlich erzeugte Nachkommen von zwei Eltern verschiedenartiger Abstammung (BREIDNER), die später ungeschlechtlich vermehrt werden. Unter Hybridenreben werden auch weitere Rückkreuzungen mit einem europäischen Partner verstanden, wobei der Hybridencharakter mit der Resistenz erhalten bleibt. Solche Kreuzungen haben zum Ziel, die hohe Resistenz der amerikanischen Reben gegen Schädlinge und Kälte mit der Qualität der europäischen Edelreben zu verbinden.

Der von den sog. Edelweinen verschiedene Einfluß der Hybridenweine auf den Organismus beruht nach Ansicht vornehmlich französischer Autoren auf ihrer lebertoxischen Wirkung. Auch ZWIGELT erwähnt, daß mehrere sog. alte Direktträgerweine ein während der Gärung entstehendes unbekanntes Gift enthalten, das gefährliche Rauschzustände und schließlich Degenerationserscheinungen auslöst. Jedoch müssen diese alten Hybridenweine von den neuen unterschieden werden. In jüngster Zeit führten BREIDER, REUTHER und WOLF Versuche mit Hybridenweinen durch, die sie an Hühner verfütterten. Die Autoren stellten eine gesundheitsschädigende Wirkung dieser Weine fest, doch sind ihre Ergebnisse wegen der Wahl der experimentellen Anordnung und Ausführung nicht beweisend (ZIMMERMANN). ZIMMERMANN hingegen glaubt, daß bei den neuesten pilzresistenten Neuzüchtungen der Verdacht einer Gesundheitsschädigung unbegründet ist. In diesem Zusammenhang ist es interessant, darauf hinzuweisen, daß bekannte französische Hybridenzüchter trotz ihres ständigen Genusses von Hybridenweinen ein hohes Lebensalter erreichten (ALLEWELDT). Damit soll nicht gesagt werden, daß diese Weine keinen gesundheitsschädigenden Einfluß auf den Organismus haben könnten. Die Frage nach ihrer Schädigung muß aber weiterhin offen bleiben, da die in dieser Hinsicht angestellten Untersuchungen keine eindeutige Beantwortung des Problems erlauben.

In dieser vorliegenden Arbeit sollte untersucht werden, ob sich in der Beeinflussung des Serumproperdinspiegels Hybridenweine von sog. Edelweinen bzw. von entsprechenden Äthanollösungen unterscheiden.

2. DAS PROPERDINSYSTEM

1954 wurde das Properdin von L. PILLEMER und seinen Mitarbeitern (BLUM, LEPOW, ROSS, TODD, WARDLAW, SCHOENBERG, WURM) bei Versuchen zur Reindarstellung der dritten Komplementkomponente entdeckt. Diese Entdeckung und die Erkenntnis, einen bis dahin unbekannten Serumproteinfaktor gefunden zu haben, der zur unspezifischen Resistenz gehört, rückte das Interesse an den Problemen der primären Abwehrkräfte des Organismus wieder stärker in den Vordergrund. Diese Schutzmechanismen sind angeboren und stellen eine natürliche Immunität dar, die von BUCHNER auch natürliche oder angeborene Resistenz genannt wird. Sie richtet sich gegen eine große Anzahl von Infektionserregern und hat somit ein breiteres Wirkungsspektrum als die spezifische Abwehr, eine erworbene Abwehrkraft des Organismus, deren Wirkung auf Antikörpern beruht, die spezifisch ein sie auslösendes Antigen angreifen. Aller-

dings wird in neuerer Zeit immer mehr die Anschauung vertreten, daß es sich beim Properdin um einen spezifischen während des Lebens erworbenen Serumfaktor, also um einen Antikörper handeln könnte. Die Tatsache, daß dieser Stoff mit C' reagiert und gegen verschiedene Infektionserreger, vornehmlich gegen gramnegative Keime, gerichtet ist, würde mit dieser Vorstellung übereinstimmen.

Von dem sog. unspezifischen Schutzsystem sind einige Faktoren schon lange bekannt. Anfang der achtziger Jahre berichteten LISTER und etwas später NUTTAL über die bakterizide Kraft von Vollblut. Diese konnte BUCHNER auch an leukozytenfreiem Serum nachweisen, und er nannte den dafür verantwortlichen Serumfaktor "Alexin". Alexin ist, wie später erkannt wurde, mit dem Komplement von EHRLICH und MORGENROTH identisch. WRIGHT und DOUGLAS fanden die Opsonine, einen im Serum vorhandenen thermolabilen Resistenzfaktor, der die Phagozytierbarkeit gewisser Keime erhöhen bzw. erst ermöglichen soll. Natürliche Schutzstoffe mit bakterizider, bakterio-statischer oder bakteriolytischer Wirkung ließen sich in Leukozyten und Sekreten nachweisen. Zu dieser Gruppe gehören: die in den Sekreten von DOLD gefundenen Inhibine, die β -Lysine von PETERSON, die Anthrakozidine (Plakine und Plakanthrakozidine) von GRUBER und FUTAKI und die Lysozyme von FLEMING; alle diese Faktoren sollen gegen grampositive Keime gerichtet sein. Die Lysozyme kommen als basische Proteine von niederem Molekulargewicht in den polymorphkernigen Leukozyten vor und bewirken die Bakteriolyse von grampositiven Kokken. Nach LACK, DUBOS und HIRSCH vernichten sie koagulasenegative Staphylokokken, ohne jedoch diese auflösen zu können. Die von SCHNEIDER in den Leukozyten gefundenen Leukine wirken auf grampositive und gramnegative Bakterien, während das X-Lysin von WULFF und HJORTH nur gramnegative Keime angreift. In jüngster Zeit isolierte HIRSCH das gegen gramnegative Erreger bakterizide Phagozytin, und MYRVIK und WEISER fanden das Bakterizidin, eine gegen grampositive Keime gerichtete Serumkomponente. Leukotaxin von MENKIN wird von verschiedenen Seiten in Frage gestellt. Überhaupt scheint die Individualität von einigen der oben genannten Stoffe fraglich zu sein. Das bisher letzte Glied in der Kette der unspezifischen Abwehrfaktoren ist das Properdin von PILLEMER, das als Resistenzfaktor nachgewiesen, dessen Aktivität gemessen und dessen Eigenschaften nach Anreicherung und Isolierung untersucht werden konnten. Der Entdecker wählte für seinen Stoff in Anbetracht seiner keimzerstörenden Wirkung den Namen "Properdin", der sich vom lateinischen "pro perdere" ableitet.

Nach Untersuchungen von PILLEMER und seinen Mitarbeitern handelt es sich

beim Properdin um ein Euglobulin, dessen isoelektrischer Punkt zwischen 5,5 und 5,8 liegt. Die Substanz ist reich an Kohlehydraten, Lipoiden und Phosphor. Sie hat ein Molekulargewicht von $1,2 \times 10^6$ (PILLEMER, BLUM, LEPOW, ROSS, TODD, WARDLAW) und eine Sedimentationskonstante $S_{20} = 25$ (ISLIKER). Elektrophoretisch verhält sich Properdin nach PILLEMER und LINDER wie ein gamma-Globulin, während es nach Untersuchungen von SCHEIFFARTH, FRENGER und GÖTZ neben einem gamma-Globulinanteil noch einen beta-Globulinanteil besitzt. WESTPHAL hält es für möglich, daß Properdin uneinheitlich ist bzw. in niedermolekulare Proteine zerfallen kann. Versuche von KELLER, ISLIKER und AEBI mit C^{14} -markiertem Leucin ergaben, daß Properdin nicht in allen seinen Eigenschaften mit denen eines gamma-Globulins übereinstimmt: bei Messungen seiner Synthese- und Abbaugeschwindigkeiten stellt es sich heraus, daß es eine wesentlich kürzere Halbwertszeit als beta- oder gamma-Globuline hat. Nach KELLER, ISLIKER und AEBI beträgt die Properdin-Halbwertszeit im Kaninchenserum 2 - 3 Tage. Das UV-Absorptionsspektrum des Properdins hat sein Maximum bei 278 millim, was auf ein einfach gebautes Protein hinweist (LINDER). Im Serum ist es bis zu einer Temperatur von 48°C stabil. Isoliertes reines Properdin verträgt eine Kurzzeiterhitzung bis 66°C und bleibt bei einem pH-Bereich von 4,8 - 8,4 sowie der Ionenstärke bis 0,15 stabil. Seine Inaktivierung läßt sich durch Inkubation bei 56°C während einer halben Stunde erreichen. Einfrieren und Auftauen können ohne Aktivitätsverlust vorgenommen werden (PILLEMER, BLUM, LEPOW, ROSS, TODD, WARDLAW). Die Bildungsstätte des Properdins ist noch nicht eindeutig bekannt, es scheinen jedoch die Leber und neurovegetative Einflüsse eine Rolle zu spielen. Dies geht daraus hervor, daß Säuglinge, die noch eine gewisse Unreife der Leber und des neurovegetativen Systems aufweisen, einen sehr niederen Serumproperdinspiegel haben (KOCH, SCHULTZE, SCHWICK). Im Normalserum beträgt der Properdingehalt 0,03% des Gesamteiweißgehaltes, seine Aktivität 6 - 8 Einheiten pro ml (SCHULTZE, SCHWICK).

Lange bekannt ist die Fähigkeit von Hefezellen, Komplement zu inaktivieren, das aus 4 Komponenten C' 1-4 besteht (KABAT und MAYER) und nur in seiner Gesamtheit wirksam ist. Schon im Jahre 1900 beobachtete von DUNGERN dieses Phänomen. Es konnte in der Folgezeit festgestellt werden, daß es sich bei dieser Reaktion um eine Inaktivierung der dritten Komplementkomponente handelt. Zur Isolierung dieser Komponente wurden von PILLEMER und seinen Mitarbeitern Versuche durchgeführt, in denen sie Zymosan, ein wasserunlösliches Polysaccharid aus der Hefezellwand, auf Normalserum einwirken ließen. Das Ergebnis war eine Bindung der C'3-Komponente an das Zymosan in einer anscheinend enzymatisch verlaufenden Reaktion, die in einem pH-

Bereich von 6,8 - 8,2 , bei einer Temperatur von 25 - 37°C, einer Ionenstärke von 0,12 und in Anwesenheit von Magnesiumionen ihre optimale Stärke entfalten konnte. Wurde der gleiche Versuch - Seruminkubation mit Zymosan - bei niedrigerer Temperatur (17°C) ausgeführt, so blieb die Aktivität der dritten Komplementkomponente erhalten. Eine anschließende zweite Zugabe von frischem Zymosan zu dem gleichen Serum bei einer Temperatur von 25 - 37°C konnte ebenfalls keine Inaktivierung der C'3-Komponente bewirken.

Dieser unterschiedliche, von der Temperatur abhängige Reaktionsablauf wird durch Einschaltung des dritten Faktors, dem auf diese Weise gefundenen Properdin, verständlich: Inkubiert man normales Serum bei 15 - 17°C mit Zymosan, so bildet sich der Properdin-Zymosankomplex (PZ). An diesen bindet sich bei höherer Temperatur (25 - 37°C) selektiv die C'3-Komponente des Komplements und erleidet dadurch eine irreversible Inaktivierung. Die Bindung zwischen Properdin und Zymosan erfolgt in stöchiometrischen Verhältnissen (LEON, PILLEMER, BLUM, LEPOW, WURZ, TODD); sie ist reversibel und läßt sich bei einer Ionenstärke oberhalb von 0,4 wieder in ihre Bestandteile zerlegen. Für den optimalen Reaktionsablauf sind die Komplementkomponenten, Magnesiumionen und zwei weitere noch unbekannte Faktoren (LEON) nötig. Nach Untersuchungen von PENSKY, BLUM und Mitarbeitern scheinen die Komplementkomponenten für die Bildung des Properdin-Zymosankomplexes und die anschließende bei höherer Temperatur erfolgende Inaktivierung der dritten Komponente nicht erforderlich zu sein. Beide Reaktionen sollen unter Mitwirkung zweier selbständiger Faktoren A und B ablaufen. Diese scheinen jedoch nur bei der durch Zymosan ausgelösten Inaktivierung der C'3-Komponente ihre Wirkung entfalten zu können; sie haben jedenfalls auf die alle Komplementkomponenten benötigende Serumbakterizidie keinen Einfluß. Die für die bakterizide Wirkung des Serums oder die Properdin-Zymosankomplexbildung so notwendigen Magnesiumionen lassen sich durch Kobalt- und Manganionen ersetzen (WARDLAW, BLUM, PILLEMER). Das quantitativ wirksamste Element von diesen drei Kationen ist das Mangan; es wirkt zweimal so aktiv wie Kobalt und ist fünfmal aktiver als Mangan. Das auf die gleiche Weise von den oben genannten Autoren geprüfte Kalzium ist völlig inaktiv.

Da bei den Reaktionen des Properdins, sowohl bei Versuchen mit Zymosan in vitro als auch im Rahmen der unspezifischen Infektabwehr in vivo, die Anwesenheit von Komplement, Magnesiumionen und Kofaktoren (LEON) erforderlich ist, spricht man vom Properdin-Komplement-System.

Die Properdinbestimmung stellt eine Messung der Aktivität der dritten Komplementkomponente dar. Dies geht aus der Tatsache hervor, daß steigende Konzentrationen des Properdin-Zymosan-Komplexes steigende Mengen der C'3-Komponente inaktivieren: Ein durch Zymosankubation bei 17°C und anschließende Abzentrifugierung des Properdin-Zymosan-Komplexes hergestelltes properdinfreies Serum (RP-Serum = removed Properdin), das in genügend hoher Konzentration die dritte Komponente enthält und bei dem diese zugleich limitiert, wird zusammen mit Zymosan einem zu testenden Serum beigegeben. Der nun in diesem Reaktionsgemisch entstehende Properdin-Zymosankomplex inaktiviert bei 37°C die C'3-Komponente, deren Abfall mit Hilfe eines komplementverbrauchenden hämolytischen Systems gemessen werden kann. Die Abnahme der Aktivität der C'3-Komponente ist also ein Maß für den Properdingehalt des Testserums. PILLEMER hat auf Grund dieser Zusammenhänge eine Properdin-Einheit (PE) als die in einem Testserum enthaltene kleinste Menge an Properdin definiert, die in Gegenwart von Zymosan bei 37°C während einer Stunde die C'3-Aktivität eines ccm RP-Serum um 120 ± 30 50%-Hämolyse-Einheiten reduziert.

Die von PILLEMER angegebene Technik zur Properdinbestimmung wurde von verschiedenen Seiten (ISLIKER, SCHULTZE und Mitarb., DRESSLER) modifiziert. Neben diesen Verfahren gibt es noch andere Methoden zur Properdinbestimmung, die alle auf dem gleichen Prinzip beruhen, der Komplexbildung von Properdin mit einem bestimmten Polysaccharid und der nachfolgenden C'3-Inaktivierung. Es sind dies im einzelnen: Messungen auf Grund der hämolytischen Aktivität des Properdins gegenüber Erythrozyten von Patienten, die an paroxysmaler nächtlicher Hämoglobinurie (PNH) leiden (HINZ, JORDAN, PILLEMER), gegenüber tanninbehandelten normalen Erythrozyten (HINZ, PILLEMER) und auf Grund seiner phagenneutralisierenden Wirkung (BARLOW, van VUNAKIS, LEVINE). ISLIKER und LINDER beschreiben ein Verfahren, das auf einer mikroanalytischen N-Bestimmung beruht.

Manchmal ist die Bestimmung des Properdins durch das Vorkommen von Hemmkörpern (inhibitors) im Serum unmöglich (WILLERS, PONDMAN, WINKLER). Bei diesen Stoffen handelt es sich um alpha-2-Globuline, deren Wirkung in einer Inaktivierung des Properdins besteht (ISLIKER, BARANDUN, FLÜCKIGER). Um ihren störenden Einfluß auszuschalten, mißt man das Properdin nach einer Methode von LEON. Das durch dieses Verfahren bestimmte Properdin wird als "available properdin" (LEON) bezeichnet. Ein weiterer Umstand kann zu einer fehlerhaften Properdinbestimmung führen: Liegt bei einem Testserum eine sehr hohe Konzentration der C'3-Komponente vor, deren Zufuhr

bei der Messung nicht berücksichtigt wird, so kann sie den anfallenden Properdin-Zymosan-Komplex vollständig abbinden, ohne selbst einen nennenswerten Abfall zu erleiden. Dadurch wird ein negativer Properdinbefund vorge täuscht. Zur Ausschaltung dieser Fehlerquelle werden nach den Vorschlägen von McNALL und FRITZSCHE, FISCHER, SCHWICK und SCHULTZE doppelte Testansätze ausgeführt, der eine mit, der andere ohne Zymosan, und die durch die C'3-Komponente hervorgerufenen Hämolyse-Extinktionen eines als Indikator zugesetzten hämolytischen Systems in den korrespondierenden Röhrchen verglichen. Zeigt der Testansatz mit Zymosan eine schwächere Hämolyse, so erhält man dadurch einen Hinweis auf die Properdinanwesenheit im Testserum.

Durch Einwirkung eines schwach alkalischen Phosphatpuffers hoher Ionenstärke (über 0,4) auf den Properdin-Zymosankomplex konnte PILLEMER Properdin gewinnen. Unter diesen Bedingungen zerfällt der Komplex in seine Bestandteile. Aus dem so erhaltenen Extrakt soll Properdin durch Dialyse und Umfällung im Bereich seines isoelektrischen Punktes in einem 3000 - 7000-fach höheren Reinheitsgrad anfallen (PILLEMER). ISLIKER und seine Mitarbeiter konnten mit demselben Verfahren nur eine 2500-fache Properdinanreicherung erzielen. Eine weitere Methode zur Properdingewinnung, ein chromatographisches Verfahren, wird von PONDMAN und PRINS angegeben.

Nachdem der Beweis für das Vorhandensein des bis dahin unbekannten Serumfaktors Properdin erbracht war, interessierte es, ob dieser Stoff den Verlauf von Krankheiten beeinflussen oder sie sogar verhüten kann. Die Bedeutung des Properdins erkannten als erste PILLEMER und seine Mitarbeiter bei Untersuchungen des Properdinspiegels nach Verabreichung von Zymosan und nachfolgender Infektionssetzung im Tierversuch. In der Folgezeit hat es sich gezeigt, daß Properdin - wohl zusammen mit anderen Schutzmechanismen - bei der Vernichtung von vielen gramnegativen Erregern (PILLEMER, WARDLAW), von Viren, von Protozoen (GRÖNROOS), bei der Neutralisation von Phagen (BARLOW, van VUNAKIS, LEVINE) und bei der Hämolyse von PNH-Erythrozyten (HINZ, JORDAN, PILLEMER) beteiligt ist.

Die bakterizide Wirkung des Properdins äußert sich in einer Bakteriolyse, für deren Zustandekommen die Anwesenheit von Magnesiumionen und der vier Komplementkomponenten Voraussetzung ist. Der Lyse geht eine Fixation von Properdin an das jeweilige Substrat der Bakterienzellwände voraus. Wie Properdin mit dem Polysaccharid aus der Hefezellwand, dem Zymosan, eine Bindung eingeht, so tritt es auch mit Poly- und Mukopolysaccharidbestandteilen der Bakterien in Beziehung. Besonders große Affinität besitzt es

gegenüber den Lipopolysacchariden, die Zellwandbestandteile sind. Der Reaktionsablauf verbraucht Komplement und gleicht der durch den Properdin-Zymosankomplex ausgelösten C'3-Inaktivierung. Auf Grund dieses Zusammenhanges hat ISLIKER eine Hypothese aufgestellt, nach der die erste Komplementkomponente, eine Proesterase, durch die Bildung des Properdin-Bakterien-Komplexes aktiviert wird. Dadurch soll sich aus der phospholipoidreichen Komplementkomponente C'3 Lyso-Lezithin bilden, das eine starke lytische Wirkung entfaltet. Bei dieser Annahme stützt sich ISLIKER auf die Tatsachen, daß der Properdin-Bakterien-Komplex bei 37°C eine C'3-Inaktivierung herbeiführen kann und, daß nach einer Inkubation von Seren, die die C'1- und C'3-Komponente enthalten, lysolezithinartige Substanzen entstehen. Die bakterizide Wirkung des Properdinsystems richtet sich in erster Linie gegen gramnegative Bakterien, die aber nicht in ihrer Gesamtheit properdinempfindlich sind (PILLEMER, WARDLAW).

Eine besondere Bedeutung erlangte die Erforschung der Wirkungsweise des Properdins durch die Tatsache, daß Injektionen kleiner Dosen Zymosan oder anderer properdin-affiner Substanzen im Organismus einen raschen Abfall des Serumproperdinspiegels innerhalb von 1 - 2 Stunden auslösen (LANDY und PILLEMER). An diese erste negative Phase schließt sich eine zweite an, die in einer reaktiven Erhöhung des Properdinspiegels auf 200 - 300% gegenüber dem Ausgangswert besteht und für einen Zeitraum von mehreren Tagen erhalten bleibt (PILLEMER, ROSS). Dieses Phänomen der Stimulierbarkeit des Properdins besitzen alle Substanzen, die in vitro mit ihm Bindungen eingehen können: Außer mit dem oben erwähnten Zymosan läßt sich dieser Effekt auch durch Applikation von Polysacchariden aus normalen und neoplastischen Geweben (PILLEMER, LANDY, SHEAR), Salmonellen- und E.coli-Endotoxinen (LANDY, PILLEMER, ROSS, ROWLEY), Wandbestandteilen vieler grampositiver Bakterien (PILLEMER, SCHOENBERG, BLUM, WURM), gewissen Mukopolysacchariden aus tierischen (LANDY, PILLEMER, SHEAR) und pflanzlichen Geweben (BÜSING), Erythrozytenstromata von normalen tanninbehandelten, wie von kranken PNH-Erythrozyten (MARTIN), Lävanden und Dextranen verschiedener Herkunft (PILLEMER), Pepton (FRITZSCHE) und von dem im Organismus produzierten Heparin erzielen. Da Lipoproteine und Lipopolysaccharide aus denselben Erregern eine Stimulierung des Properdins bewirken können, scheint der Lipoidanteil das wirksame Prinzip dieser hochmolekularen Stoffe zu sein (ISLIKER). Ein reines aus E.coli gewonnenes Lipoid zeigt nach seiner Verabreichung eine den oben angeführten Substanzen vergleichbare Erhöhung des Properdinspiegels (ISLIKER).

Während bei Versuchen in vitro gleichgroße Mengen an Polysaccharid und Properdin zu ihrer Komplexbildung erforderlich sind, reichen im Tierversuch intravenöse Injektionen von 6,1 - 6,3 gamma zur Mobilisierung des Serumproperdintiters aus. PILLEMER und ROSS berichten, daß größere Dosen von Zymosan einen sehr starken initialen Titerabfall auslösen, an dem sich die reaktive Phase - wenn der Organismus überhaupt diesen Eingriff übersteht - nur langsam anschließt. Am 6. - 10. Tag nach der Injektion sind im Serum wieder 75% der normalen Properdinmenge vorhanden. Im Gegensatz zu den auftretenden Bewegungen des Properdinspiegels zeigt der Titer der dritten Komplementkomponente nach Zymosan-Injektion keine Änderung (PILLEMER, ROSS).

Die Erkenntnis, daß mit der Erhöhung des Properdinspiegels eine Steigerung der unspezifischen Resistenz des Organismus besonders gegen gramnegative Erreger parallelläuft, ist von großer Bedeutung (LANDY und PILLEMER). ROWLEY beobachtete, daß künstlich gesetzte Infektionen mit normalerweise für Mäuse avirulenten E.coli-Stämmen häufig für diese Tiere tödlich enden, wenn die Verabreichung der Bakterien innerhalb der ersten Stunden nach der Zymosanınjektion erfolgt. Hingegen waren die Versuchstiere gegen Infektionen mit einem für sie hochvirulenten E.coli-Stamm am 2. - 5. Tag, in der reaktiven mit Properdintiter-Erhöhung einhergehenden Phase, resistent. Das gleiche Ergebnis konnte ROWLEY auch bei den widerstandsfähigeren Ratten erzielen. HURNI bestätigt die Resultate von ROWLEY: Eine halbe Stunde nach einer Injektion von 50 gamma eines bakteriellen Lipopolysaccharids werden Mäuse mit einem virulenten Colibakterium infiziert und gehen zugrunde, während Tiere der gleichen Art 48 Stunden nach der Lipopolysaccharid-Verabreichung eine Infektion mit 10^{8-9} Colibakterien überwinden können. ROSS berichtet über eine wachsende Wirtsresistenz bei Mäusen gegen Infektionen mit *Klebsiella pneumoniae* nach einer durch parenterale Verabreichung von Zymosan ausgelösten Erhöhung des Serumproperdinspiegels. Im Verlauf dieses Versuches wurde von ROSS festgestellt, daß die unspezifische Resistenz bei den Versuchstieren für einen Zeitraum bis zu drei Monaten bestehen bleibt, trotz Rückkehr des Properdins zu seiner normalen Menge im Serum. Auch LANDY und PILLEMER konnten nach Rückgang des Properdins auf seinen Normalwert hohe nichtspezifische Resistenzen nachweisen. Dieser Effekt, der neben Zymosan durch Injektion anderer Polysaccharide und Lipopolysaccharide zu erzielen ist, darf wohl nur zum Teil dem Properdin zugeschrieben werden, zumal bekannt ist, daß auch andere Mechanismen der unspezifischen Abwehr durch Polysaccharidsubstanzen mobilisiert werden können (SCHULTZE, SCHWICK). Ebenso gelang es ROWLEY festzustellen, daß in

den ersten Stunden nach Verabreichung von Typhusvakzinen ein markanter Properdintiterabfall im Tierserum mit einer Resistenzverminderung parallel läuft, die innerhalb von 24 - 48 Stunden einem Zustand erhöhter Resistenz Platz macht, der wochen- und monatelang anhalten kann. Auch hierbei ist es fraglich, ob die langdauernde erhöhte Abwehrkraft lediglich auf eine Stimulierung des Properdins zurückzuführen ist. In einigen Fällen läßt sich eine erhöhte Resistenz vor der Kompensation des initialen Abfalls feststellen (ROWLEY).

Die bakterizide Kraft des Properdins beschränkt sich nicht auf die gramnegativen Bakterien. Bei Mäusen läßt sich nach Verabreichung endotoxischer Substanzen eine Resistenzsteigerung auch gegen die in vitro (DUBOS und SCHAEDELER) properdinunempfindlichen Tuberkelbakterien nachweisen. Im Gegensatz dazu haben HEYMANN und WAHLIG gezeigt, daß sich Tuberkelbakterien - ähnlich wie Zymosan - in vitro mit Properdin von normalen Kaninchenseren verbinden. Außerdem konnten HEYMANN und WAHLIG eine Stimulierung des Properdinsystems durch Tuberkelbakterien im Tierversuch beobachten.

Eine direkte Injektion von gereinigtem menschlichem Properdin vier Stunden vor bzw. zwei Stunden nach einer Infektionssetzung mit *Klebsiella pneumoniae* hat bei Mäusen einen anwachsenden Schutz gegen diese Infektion zur Folge (ROSS). Dabei ist die bakterizide Wirkung des Serums von der zugefügten Properdinmenge abhängig. Bei Überschreitung einer Properdineinheit pro ml Serum geht der bakterizide Effekt zurück (PILLEMER, WARDLAW).

Beim Menschen läßt sich nach intravenöser Injektion eines hochgereinigten Lipopolysaccharids ein kurzdauernder Properdinabfall feststellen. Der Properdintiter erreicht nach wenigen Stunden wieder seine Norm und in gewissen Fällen einen Wert, der 2-3 mal höher als der Normalwert ist (EICHENBERGER und ISLIKER). Eine Stimulierung des Serumproperdins kann beim Menschen auch durch intravenöse Applikation eines Lipopolysaccharids aus *Salmonella abortus equi*, Pyrexal, erzielt werden (ISLIKER).

Die Funktion des Properdinsystems bei Infektionen mit Salmonellen, Shigellen und *E. coli* zu einem Zeitpunkt, vor dem noch keine spezifischen Antikörper gebildet werden konnten, sehen WARDLAW und PILLEMER in einer ersten unspezifischen Abwehr der Fremdkörper, bei der durch die Fixation des Properdins an das polysaccharidische Endotoxin der Bakterien die Bakteriolyse eingeleitet werden soll. ISLIKER bezeichnet die Aufgabe des Properdinsystems als "erste Hilfe" bei bakteriellen Infektionen, da der Properdinspiegel im Gegensatz zu echten Antikörpern schon wenige Stunden nach der Reizwirkung ansteigt. In diese Richtung weisen auch die von HEYMANN und WAHLIG vorgenommenen

Vergleichsuntersuchungen über die Höhe des Properdin- und Antikörper-Titers bei Kaninchen, die mit Tuberkelbakterien und *Salmonella typhosa* immunisiert wurden. Das Untersuchungsergebnis zeigt einen divergierenden Verlauf der beiden Abwehrmechanismen, was auf deren Unabhängigkeit voneinander schließen läßt. Bei den mit Tuberkelbakterien immunisierten Tieren wird zunächst das Properdin stimuliert, worauf nach dessen Abfall spezifische, gegen die Erreger gerichtete Antikörper auftreten; der unspezifischen Abwehr folgt die spezifische. Die mit *Salmonella typhosa* behandelten Kaninchen reagieren anders: Die initiale Senkung des Properdintiters ist stark und langdauernd, so daß eine Aufeinanderfolge der beiden Abwehrsysteme nicht beobachtet werden kann.

Zur Stütze der Richtigkeit der Auffassung, daß ein hoher Properdinspiegel mit einer Steigerung der Abwehrkraft des Organismus einhergeht, wird angeführt, daß Ratten, die einen hohen Gehalt an Serumproperdin (50 Einheiten) besitzen, sehr widerstandsfähig gegen Infektionen sind, während Meerschweinchen mit einem niedrigen Titer (2 Einheiten) sich ausgesprochen infektionsanfällig erweisen (PILLEMER). Auch Untersuchungen von LANG, KOCH, SCHULTZE und SCHWICK sprechen für diese Auffassung: Im Nabelvenenblut bei der Geburt wie auch im Serum der Säuglinge bis zum vierten Monat findet sich ein niedriger Properdinspiegel, der von einem Mangel an Komplement, Prothrombin und Convertin begleitet ist. Die vermehrte Infektionsanfälligkeit gegen Coli-, Keuchhusten-, Influenza- und Meningokokkeninfektionen während der ersten Lebenszeit ist auf den verminderten Properdin-Komplement-Gehalt zurückzuführen. Erst im Laufe des zweiten Lebensjahres wird der Properdinspiegel des Erwachsenen (KOCH, SCHULTZE, SCHWICK) erreicht.

Das Properdinsystem spielt auch bei der sog. unspezifischen Virusneutralisation eine Rolle. Seine Abwehrkraft erstreckt sich auf Influenza A- und B-, Mumps- und Newcastle-Disease-Virus (PILLEMER, BLUM, LEPOW, ROSS, TODD und WARDLAW, WEDGWOOD, GINSBERG und PILLEMER). FINKELSTEIN, ALLAN und SULKIN haben in normalem Rattenserum einen Hemmstoff gegen acht Arten von Herpesvirus gefunden, der mit dem Properdinsystem identisch zu sein scheint. Zur Inaktivierung der Viren sind neben dem Properdin die vier Komplementkomponenten und Magnesiumionen erforderlich. Ein Zusatz von Viren zu einem Normalserum hat eine signifikante Properdinsenkung zur Folge, aber keine deutliche Verminderung der Komplementkomponenten C'1, 2, 4 (GINSBERG und WEDGWOOD). Ein durch Austauschharze kationenfrei gemachtes Serum verliert seine virusneutralisierende Wirkung und kann nur durch Zugabe von Magnesium reaktiviert werden. Wird nach einer Pro-

perdinadsorption an die Viren Magnesium aus dem Serum eliminiert, so dissoziiert diese Bindung in ihre Bestandteile, und ein Teil der Viren befindet sich wieder in freier Form. Diese besitzen jedoch nur noch eine hämagglutinierende Fähigkeit (ISLIKER), keine infizierende Eigenschaft mehr. Magnesium stellt wohl das Bindeglied in dieser Abwehrreaktion dar (GINSBERG und WEDGWOOD). Manche Viren werden nur durch eine Kombination von Antikörpern und Properdin inaktiviert (WEDGWOOD).

Die Phageninaktivierung durch frisches Humanserum beruht ebenfalls auf der Wirkung des Properdinsystems (BARLOW, van VUNAKIS, LEVINE). Kleinste Dosen von Poly- und Lipopolysacchariden heben die Neutralisationswirkung auf (BARLOW, van VUNAKIS, LEVINE). Im Gegensatz zu diesen Befunden kann nach Untersuchungen von HUSMANN Properdin nicht bzw. nicht allein für die phagenneutralisierende Aktivität des Serums verantwortlich gemacht werden.

Die Inaktivierung von *Toxoplasma gondii* und anderen Protozoen erfolgt durch Antikörper und Properdinsystem, wobei dieses mit dem Toxoplasma-Antikörper-Aktivator identisch ist (GRÖNROOS). In manchen Fällen soll das Properdin allein die Abtötung von Protozoen bewirken (GRÖNROOS). Der Wirkungsmechanismus dieser Abwehrreaktion ist noch nicht geklärt: GRÖNROOS sieht die Aufgabe des Properdins darin, daß es unter Beteiligung von C'2, 3 und 4 mit der Zellwand ein lytisches System bildet, das diese so verändert, daß den Antikörpern das Innere des Protozoons zugänglich gemacht wird.

Das Properdinsystem steht auch zum Schock und zu Stress-Situationen in Beziehung. Beim hämorrhagischen Schock tritt eine signifikante Senkung des Properdin- und Komplementspiegels im Serum auf (FINE, RUTENBERG; FRANK, FINE und PILLEMER), mit der ein Rückgang der natürlichen Resistenz verbunden ist. Auch bei schweren Kollapszuständen schwinden beide Serumfaktoren innerhalb weniger Minuten aus dem Serum (FISCHER, BRÜCKNER, FRITZSCHE, BECKER). Die gleichen Autoren berichten, daß nach der Geburtsarbeit, einer Stress-Situation, in sechs von neun Fällen der Properdintiter deutlich, die Komplementmenge jedoch nur leicht vermindert war. Als Ursache für den Properdin- und Komplementabfall kommen nach FISCHER, BRÜCKNER, FRITZSCHE und BECKER die Aktivierung des fibrinolytischen Systems aus der vegetativen Gesamtumschaltung von HOFF, das bekanntlich Komplement angreift, oder eine Freisetzung von Heparin in Frage. FRITZSCHE konnte mit Hilfe des experimentellen Peptonschocks im Hunderversuch demonstrieren, daß nach intravenöser Injektion von Pepton Properdin- und Komplementtiter abfallen, während gleichzeitig Heparin im Serum erscheint. Heparin ist ein kör-

pereigenes Mukopolysaccharid, das nicht nur beim Pepton-, sondern auch beim anaphylaktischen Schock, allgemein bei allen außergewöhnlich starken Reizen im Kreislauf auftaucht und die Fähigkeit besitzt, Properdin durch Bindung zu inaktivieren (FISCHER, BRÜCKNER, FRITZSCHE, BECKER). Möglicherweise läßt sich das Aufflammen latenter Infekte nach Stress-Situationen auf den gleichen Reaktionsmechanismus zurückführen (FRITZSCHE).

Ganzkörperbestrahlung mit ionisierenden Strahlen in einer Dosis von 500 r (ISLIKER) führt bei Mäusen zu einer erhöhten Infektionsanfälligkeit, die sich in einer bald nach der Bestrahlung eintretenden Bakteriämie zeigt. Die Strahlenwirkung ist von der Strahlendosis abhängig. Die Infektionsbereitschaft wird von einem Abfall des Serumproperdingehaltes begleitet: Drei Tage nach der Bestrahlung sinkt der Properdintiter auf die Hälfte ab, und acht Tage danach beträgt er nur noch 30% seines Ausgangswertes (LINDER, ISLIKER, ZUPPINGER). Erst zwei bis fünf Wochen später steigt er wieder zur Norm an (ISLIKER). ROSS berichtet über einen Properdinsturz am ersten und zweiten Tag nach der Bestrahlung, worauf die weitere Abnahme des Serumfaktors kontinuierlich erfolgte. Zum Zeitpunkt des geringsten Properdingehaltes tritt am häufigsten die Bakteriämie auf. Es ist daher naheliegend, daß beide Erscheinungen ursächlich miteinander verknüpft sind (LINDER, ISLIKER, ZUPPINGER). Die Ursache des Properdinspiegelabfalles findet in einem vermehrten Auftreten von properdinbindenden Mukopolysacchariden im Serum ihre Erklärung; ISLIKER kann das oben erwähnte properdininaktivierende Heparin nachweisen (nach hochdosierter Bestrahlung). Auf der Suche nach einem Schutz vor der nach einer Ganzkörperbestrahlung auftretenden tödlichen Bakteriämie führt ROSS, um den strahlungsbedingten Properdinmangel zu kompensieren, an bestrahlten Mäusen Injektionen mit gereinigtem Menschen- und Rinderproperdin aus und kann feststellen, daß die Versuchstiere am Leben bleiben. Das gleiche Experiment stellt ROSS mit properdinaffinen Substanzen vor der Bestrahlung an, in der Annahme, daß ein durch diese Stoffe reaktiv erhöhter Properdinspiegel den Properdinabfall im Mäuseserum abfangen kann. Das Ergebnis ist das gleiche. Der positive Ausgang dieser Reaktion ist jedoch von der Tendenz eines Ansteigens des Properdins vor Beginn der Bestrahlung abhängig. Der letzte Befund von ROSS konnte von LINDER, ISLIKER, ZUPPINGER nicht bestätigt werden.

In der endogenen Zytolyse spielt das Properdin-Komplement-System eine aktive Rolle, die sich in einer lytischen Wirkung äußert. Es sei zunächst die Hämolyse der Erythrozyten von Patienten mit paroxysmaler nächtlicher Hämoglobinurie (PNH) angeführt. Der Zellerfall dieser roten Blutkörper-

chen erfolgt im menschlichen Serum nur in Anwesenheit von Properdin (HINZ, JORDAN, PILLEMER). Ein aus Normalserum durch Zymosaninkubation hergestelltes RP-Serum ist gegenüber PNH-Erythrozyten inaktiv. Seine hämolytische Kraft kann durch Zufuhr von Properdin oder Rattenserum wiederhergestellt werden (MARTIN). Auch Properdin allein ist unwirksam; nur im Zusammenwirken mit Komplement und Magnesiumionen löst es einen Zerfall dieser krankhaft veränderten Zellen aus. An diesem Reaktionsablauf ist nicht nur das Properdin, sondern auch das Gerinnungssystem beteiligt. Es ist schon lange bekannt, daß Antikoagulantien die Auflösung von PNH-Erythrozyten verhindern können. Dieses Phänomen ist nach den bereits oben erwähnten Untersuchungen von FISCHER, BRÜCKNER, FRITZSCHE und BECKER über die properdininaktivierende Wirkung von Heparin verständlich. FRITZSCHE und MARTIN konnten nachweisen, daß die hämolysierende Kraft des Normalserums gegenüber Erythrozyten von Patienten mit PNH infolge der Bindung des Properdins an das Heparin verloren geht. Von einer Therapie der PNH mit Zymosan ist wegen des Auftretens der hämolytischen Krise, eines starken Erythrozytenzerfalls (FRITZSCHE und MARTIN) zu warnen, der durch einen reaktiv erhöhten Properdinspiegel auszulösen ist. Auf andere Mechanismen, die ebenfalls eine Hämolyse bewirken, wie die Kältehämoglobinurie, ist Properdin ohne Einfluß (HINZ, JORDAN, PILLEMER).

Auch normale Erythrozyten können, wie PILLEMER und Mitarbeiter zeigten, durch Vorbehandlung für das Properdinsystem angreifbar gemacht werden. Diese besteht in einer Einwirkung von Gerbsäure (1 : 40 000), Digitonin oder Trypsin (HINZ, PILLEMER) auf die roten Blutkörperchen, die anschließend von properdinhaltigem Serum innerhalb von 30 Minuten hämolysiert werden können. Die bei diesem Eingriff erreichte Zellschädigung ist unphysiologisch und sehr stark, was schon daraus hervorgeht, daß sich die behandelten Erythrozyten auch ohne Properdin in wenigen Stunden bei 37°C selbst auflösen (FISCHER, FRITZSCHE, ARGENTON). Über den Wirkungsmechanismus von Tannin, Digitonin und Trypsin besteht die Vorstellung, daß durch die künstliche Schädigung der Zelloberfläche Strukturen freigelegt werden, die mit Properdin reagieren (FISCHER, FRITZSCHE, ARGENTON). MARTIN konnte aus den Stromata normaler menschlicher Erythrozyten ein polysaccharidhaltiges Substrat gewinnen, das Properdin zu absorbieren vermag. Die Inkubation dieses Stoffes beeinflußt bei einer Temperatur von 37°C den Serumkomplementtiter nicht wesentlich (MARTIN). Da dieses Substrat in gesunden roten Blutkörperchen vorhanden ist, muß angenommen werden, daß dem Properdin-Komplement-System eine physiologische Rolle bei der Blutmauserung und beim Zellabbau allgemein zukommt (FISCHER, FRITZSCHE, ARGENTON).

Die obigen Ergebnisse stehen in Einklang mit den Beobachtungen über die kanzerolytische Wirkung des Properdin-Komplement-Systems. SOUTHAM und PILLEMER berichten, daß Karzinom-Implantate, gesunden Menschen mit verhältnismäßig hohem Properdin- und Komplementgehalt injiziert, von diesen abgestoßen werden, während sie bei Karzinomträgern mit fortgeschrittenen Tumoren und niedrigen Properdinspiegeln erfolgreich transplantiert werden können. PALM, HERBUT und KRAEMER gelingt die Transplantation von menschlichen Epithelzell- und Adenokarzinomen auf Ratten, deren Properdintiter vorher durch hohe Dosen Zymosan erniedrigt worden ist. SOUTHAM und PILLEMER beobachteten in Seren von Patienten mit Karzinomen und metastasierenden Geschwülsten niedrige Properdinwerte. BRÜCKEL, SCHULTZE und SCHWICK finden bei den von ihnen untersuchten Kranken einen normalen Serumproperdingehalt. Auch ROTTINO und LEVY untersuchten den Properdintiter von über 100 Krebspatienten, der nur in 45% der Fälle vermindert war. Aus ihren Befunden können die Autoren keine eindeutige Beziehung zwischen der Schwere der Krebserkrankung und der Höhe des Properdinspiegels feststellen. Beim Überimpfen des Yoshida-Sarkoms, eines schnell wachsenden Impftumors, bleibt der Properdingehalt im Serum der Versuchstiere in physiologischen Grenzen, wenn der Tumor nicht angeht oder nur schwach wächst; er sinkt aber deutlich ab, wenn sich die Geschwulst schnell ausdehnt (KALLENBACH, THÜRIGEN). Da die Versuchsergebnisse eine erhebliche Streuung aufweisen, können aber aus ihnen keine bindenden Rückschlüsse gezogen werden. Über einen Rückgang von implantierten Sarkomen bei Versuchstieren nach Injektion von Polysacchariden berichten HERBUT und KRAEMER. Der Beweis, daß es sich bei diesem Phänomen um die Wirkung des Properdinsystems handelt, muß noch erbracht werden.

Bei malignen Tumoren geht der Properdinabfall mit einem Anstieg der alpha-2-Globulinfraction des Serums einher (ISLIKER, BARANDUN, FLÜCKIGER). Seren mit geringem Properdingehalt haben fast immer einen erhöhten alpha-2-Globulinspiegel, der auf das Bestehen gewebserstörender Prozesse hinweist (ISLIKER). Die Properdinwerte liegen um so tiefer, je fortgeschrittener der Gewebszerfall ist (ISLIKER). Ein niedriger Serumproperdintiter mit hohem alpha-2-Globulinspiegel findet sich auch bei Patienten mit durch gramnegative Erreger hervorgerufenen Infektionskrankheiten (ISLIKER, BARANDUN), mit exsudativer Lungentuberkulose (ISLIKER, BARANDUN, FLÜCKIGER), ausgedehnten Verbrennungen, Infarkten und Strahlenschäden. ISLIKER hält es für möglich, daß das Properdin bei den obigen Erkrankungen durch endogene Abbauprodukte des Organismus gebunden wird und auf diese Weise seine Wirkung verliert. In der Tat zeigt MARTIN, daß in der

alpha-2-Globulinfraktion des Menschen ein properdininaktivierender Faktor vorkommt.

Bis heute ist bei vielen Krankheiten während ihres Verlaufes die Höhe des Properdinspiegels gemessen worden. Die Anzahl der Fälle mit erniedrigten Werten ist weit größer als die mit erhöhten Spiegeln. Ein erhöhter Properdinhalt findet sich unter anderem bei Peritonsillarabszessen, Mononukleose, cholangitischer Zirrhose (eine Übersicht siehe: SCHULTZE und SCHWICK, Blut, Zeitschr.f.d.ges.Blutforsch. Bd.IV/1958). Signifikant verminderte Properdinwerte, außer den oben bei Röntgenbestrahlung, beim Pepton- und hämorrhagischen Schock erwähnten, lassen sich bei den Patienten mit Pneumokokken-Pneumonie, Hämophilus-influenzae-Meningitis und mit durch gramnegative Keime ausgelösten Bakteriämien feststellen (ISLIKER). Bei Kranken mit Agammaglobulinämie weist ISLIKER sehr niedrige Properdinwerte nach; SCHULTZE und SCHWICK finden bei dieser Erkrankung neben einem völligen Properdinschwund auch normale Serumwerte. Bei einigen durch gramnegative Erreger verursachten Infektionskrankheiten lassen sich verminderte Properdintiter nicht regelmäßig nachweisen (SCHULTZE, SCHWICK). In manchen Fällen jedoch ergibt sich eine Übereinstimmung zwischen der Anfälligkeit des Patienten bzw. der Schwere des Infektionsverlaufes und der Höhe des Serumproperdinspiegels (SCHULTZE, SCHWICK).

Eine Milzexstirpation hat keinen Einfluß auf den Properdinspiegel im Serum: einer initialen reaktiven Phase des Properdins folgt ein Abfall, an den sich die Normalisierung des Serumfaktors anschließt (FRENGER, SCHEIFFARTH, RINGELMANN).

Angesichts des Zusammenhanges zwischen Vitaminmangel und Antikörperbildung führten WISS, WEBER und ISLIKER Untersuchungen über die Beeinflußbarkeit des Properdinspiegels durch alimentäre Mängel durch. Sie konnten feststellen, daß ein Pantothersäuredefizit bei Ratten einen Properdinabfall im Serum zur Folge hat, während Vitamin-B₁-Mangel keinen Einfluß hat.

Zusammenfassend kann gesagt werden: Das Properdinsystem ist ein Faktor der Infektabwehr des Organismus, der an der Serumbakterizidie, an Virus-, Phagenneutralisation und an der endogenen Zytolyse beteiligt ist.

EIGENE VERSUCHE

3. MATERIAL UND METHODEN

Es sollte festgestellt werden, ob sich der Serumproperdinspiegel bei Versuchstieren unter dem Einfluß von verabreichten Testlösungen ändert. Die Untersuchungen wurden mit zwei Anordnungen (Einzelgabe und Dauerversuch) durchgeführt.

Im Einzelversuch sind die Versuchstiere einmalig mit den zu testenden Lösungen gefüttert worden, wobei die jedem Tier verabfolgte Flüssigkeitsmenge 30 ml betrug. In bestimmten Zeitabständen nach der Fütterung, d.h. nach 12, 24, 48 und 72 Stunden, wurde eine Blutprobe aus der Ohrvene der Versuchstiere entnommen. Demgegenüber erhielt im Dauerversuch jedes Tier dreimal an drei aufeinanderfolgenden Tagen zu der gleichen Stunde 30 ml der Testlösungen. Die Blutentnahme aus der Ohrvene erfolgte anschließend nach 24, 48, 72 und 96 Stunden.

Beiden Versuchen ging die Entnahme des sogenannten Nullwertes voraus, d.h. eine Blutprobe vor Verfütterung der Testlösungen, die zur Feststellung des normalen physiologischen Properdingehaltes im Serum der Versuchstiere diente.

Versuchstiere waren 28 Kaninchen beiderlei Geschlechts. Das Durchschnittsgewicht eines Tieres betrug ca. 2500 g. Während der ganzen Versuchsdauer wurden die Tiere bei gleichbleibender normaler Ernährung gehalten. Zwei bis vier Kaninchen saßen, je nach Größe der Stallung, in einem Stall zusammen. Da vier verschiedene Testlösungen verwendet werden sollten, erfolgte eine Aufteilung der 28 Tiere in vier Kollektive zu je sieben Tieren. Das erste Kollektiv bekam Edelwein, das zweite Äthanol, das dritte weißen und das vierte roten Hybridenwein.

Die Testlösungen mußten mit einem Katheter (Magensonde) verfüttert werden. Die motorische Unruhe der Versuchstiere, ausgelöst durch die Sondierung, erforderte eine besondere Fütterungstechnik. Jedes Kaninchen wurde in einen rechteckigen, seiner Größe angemessenen Holzkasten gesetzt, dessen Deckseite mit einem Schieber geschlossen werden konnte. In der Wand der Schmalseite des Kastens befand sich zur Aufnahme des Kopfes eine kreisrunde Öffnung, deren Durchmesser dem Hals des Tieres entsprach. Eine Hilfsperson hielt den Kasten so, daß der Kopf des Tieres dem Experimentator zugewandt war. Da der eingeführte Katheter stets von den Kaninchen

zerbissen wird, mußte hinter die Schneidezähne eine Kiefersperre aus Hartgummi geschoben werden, deren Mitte durchbohrt war. Durch diese Öffnung wurde ein Nelaton-Katheter (Größe 12) langsam in den Magen eingeführt. Die Kontrolle seiner richtigen Lage in Ösophagus und Magen ließ sich dadurch prüfen, daß das freie, aus dem Maul des Tieres heraushängende Katheterende in ein mit Wasser gefülltes Glas gehalten wurde. Stiegen Gasblasen auf, so hatte der Katheter den falschen Weg genommen. Nach ordnungsgemäßer Einführung wurde an das freie Sondenende eine Recordspritze (Media-Record, 10 ml) angeschlossen und die jeweiligen Testlösungen verabreicht. Hierbei war auf eine langsame Verabfolgung der Flüssigkeit zu achten. Eine vorsichtige, mit dieser Technik ausgeführte Fütterung brachte den Versuchstieren keinen Schaden.

Nach der Verabreichung machte sich innerhalb von 15 - 20 Minuten die Alkoholwirkung bemerkbar. Die Kaninchen saßen somnolent in den Ecken ihrer Stallungen. Bei Öffnung der Stalltür oder selbst bei Berührung führten sie keine oder nur sehr träge Bewegungen aus. Dieser Zustand hielt 2 - 3 Stunden an. Bis zur nächsten Fütterung (nach 24 Stunden) waren alle Tiere wieder munter.

Als Testlösungen wurden folgende Weine bzw. Äthanol verfüttert:

- 1) Ein Edelwein; es handelte sich um den "Siebeldinger Mönchspfad", Neuzucht, aus der Kellerei des Forschungsinstitutes für Rebenzüchtung, Geilweilerhof. Die Daten seiner Analyse: Alkohol = 11,65 Vol.%, Invertzucker = 1,7 g/l und freie schweflige Säure = 50 mg/l,
- 2) ein weißer Hybridenwein, "Siebeldinger Mönchspfad", Neuzucht, eine FS₄-Hybride (-201. 39), ebenfalls aus der Kellerei des Geilweilerhofes. Seine Analyse: Alkohol = 12,79 Vol.%, Invertzucker = 2,6 g/l und freie schweflige Säure = 49 mg/l,
- 3) ein roter Hybridenwein, St. Martiner Kreuz, Sylvaner-Riesling. Seine Analyse: Alkohol = 9,37 Vol.%, Invertzucker = 0,9 g/l und freie schweflige Säure = 30 mg/l,
- 4) eine wässrige Lösung von reinem unvergälltem Äthanol.

Um gleiche Versuchsbedingungen zu schaffen, mußten dem Wein mit der höchsten Alkohol- und Invertzuckerkonzentration, dem weißen Hybridenwein, die beiden anderen Weine und die Äthanollösung im Alkoholgehalt angeglichen werden. Ebenso erfolgte eine Angleichung der Konzentration der freien schwefligen Säure an den höchsten im Edelwein vorkommenden SO₂-Gehalt, wobei der weiße Hybridenwein wegen des geringfügigen Unterschiedes (49 mg/l - 50 mg/l) auf seinem Niveau belassen wurde. Alle Testlösungen sollten also

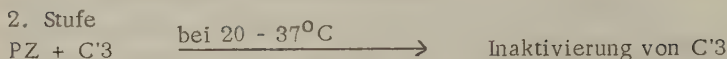
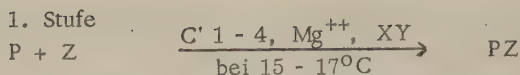
eine Konzentration an Alkohol von 12,79 Vol.%, an Invertzucker von 2,6 g/l und an freier schwefliger Säure von 50 mg/l enthalten.

Nach der Fütterung sind in den oben angegebenen Zeitabständen die Blutentnahme aus den Ohrvenen der Kaninchen vorgenommen worden. Im Anschluß an die Entfernung der Ohrbehaarung mit einer Schere oder Rasierklinge erfolgte die Säuberung der Entnahmestelle mit Xylol. Durch Anstechen mit einer Spritzennadel (Kaliber 2) ließ sich Blut aus den durch den Säuberungsreiz gut gefüllten Venen gewinnen. Das von der Ohrkante abtropfende Blut wurde in Uhlenhuth-Röhrchen aufgefangen, in denen es bis zur Retraktion des Blutkuchens bei Zimmertemperatur blieb. Eine zweite Methode zur Blutentnahme, die in einem Einschneiden der Ohrvene mit einer Rasierklinge bestand, erwies sich - hauptsächlich im Dauerversuch - wegen Gefäßobliteration als unbrauchbar. Die jedem Tier entnommene Blutmenge betrug 2 - 4 ccm. Sie wurde 10 Minuten bei 2500 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert, das überstehende, hämolysefreie Serum abgehoben und in Uhlenhuth-Röhrchen bis zur Properdintitration in der Tiefkühltruhe aufbewahrt.

Das Prinzip der Properdinbestimmung sei kurz beschrieben:

Die Inkubation eines Normalserums mit Zymosan, einem wasserunlöslichen Polysaccharid aus Hefezellwänden, führt bei 15 - 17°C zur Bildung des Properdin-Zymosankomplexes (PZ). Für diesen Reaktionsablauf ist die Anwesenheit von Komplement, bestehend aus den vier Komponenten C' 1 - 4, Magnesiumionen und evtl. weiteren bisher noch unbekannten Faktoren (LEON) erforderlich. Wird der schwerlösliche PZ abzentrifugiert, so entsteht ein properdinfreies Serum, ein sog. RP-Serum, das jedoch noch alle Komplementkomponenten enthält. Das Properdin läßt sich aus dieser Komplexbildung mit Zymosan wieder abspalten, was auf eine reversible Bindung der beiden Stoffe hinweist. Eine anschließende Inkubation des RP-Serums mit gereinigtem Properdin, mit PZ oder einem anderen frischen Serum und erneuter Beimischung von Zymosan bei einer Temperatur von 37°C führt zu einer der zugesetzten Properdinmenge proportionalen Inaktivierung von C'3. Die zweite Reaktionsstufe, in der sich der PZC'3-Komplex bildet, ist irreversibel. Die Verminderung des C'3-Titers im Serum ist mit Hilfe eines hämolytischen Systems quantitativ zu erfassen.

Zusammenfassend läßt sich die zweistufige Reaktion in einem Schema darstellen (nach FRITZSCHE, FISCHER, SCHWICK und SCHULTZE):



P = Properdin
Z = Zymosan
XY = unbekannte Faktoren (LEON).

Die Ausführung der Properdinbestimmung erfolgte nach einem von ISLIKER modifizierten PILLEMER-Verfahren, wobei die Methode von ISLIKER nochmals geringfügig geändert wurde (von GRAEVENITZ und HUSMANN). Im wesentlichen handelt es sich dabei um eine modifizierte Komplementbindungsreaktion. Die Umwandlung des zweistufigen Reaktionsablaufes in einen einstufigen ließ sich durch sofortige, bei 37°C erfolgende Inkubation des Testserums mit Zymosan und Komplement (in Form von RP- und R_3 -Serum) erreichen. Die Schwierigkeit der Properdinbestimmung liegt in dem unterschiedlichen Gehalt der einzelnen Komplementkomponenten im Serum. Da in einem System nur der kleinste Faktor gemessen werden kann und die Properdintitration eine Messung der Aktivität der dritten Komponente darstellt, muß diese limitieren. Dies läßt sich dadurch erreichen, daß dem Testserum bei der Properdinbestimmung sog. R-Seren zugesetzt werden, die einen Überschuß aller anderen Komplementkomponenten garantieren. Die menschlichen Spenderseren, in denen der Gehalt an C'2 am geringsten ist, entsprechen nicht dieser Anforderung. Das Meerschweinchenserum hingegen hat einen höheren C'2-Titer als das Humanserum, seine limitierende Komponente stellt C'3 dar; es kann deshalb zur Herstellung von R-Seren benutzt werden.

Die Properdintitration benötigte folgende Reagenzien:

I. Veronalpuffer:

85,0 g Kochsalz
5,75 g Diäthylbarbitursäure
3,75 g Natriumdiäthylbarbiturat
5,0 ml m MgCl_2
1,5 ml m CaCl_2
Aqua dest. ad 2000,0

Die Substanzen wurden in 1500 ml heißem Aqua dest. gelöst. Nach Abkühlung der Lösung erfolgte eine Auffüllung mit Aqua dest. bis auf 2000 ml.

Dieser Puffer enthält optimale Mengen an Kalzium- und Magnesiumionen. Er fand bei allen Verdünnungen und Waschungen von Substanzen Anwendung. Vor Gebrauch wurde er immer 1 : 5 (1 Vol. des hypertonischen Puffers + 4 Vol. Aqua dest.) verdünnt. Sein pH liegt um 7,4.

II. Zymosan:

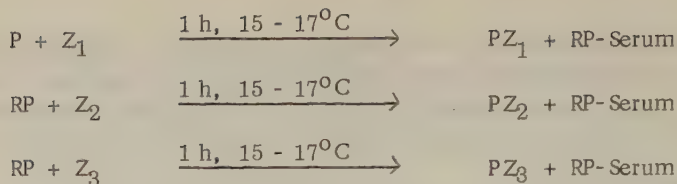
Es kam das Präparat der Behringwerke (Marburg/Lahn) zur Anwendung. Zymosan wurde zur RP- und R_3 -Herstellung in einer optimalen Konzentration von 2 - 3 mg/ml Serum, der Prüfung der R-Seren und der Properdintitration in einer Menge von 10 mg/ml VP verwandt.

III. Herstellung des RP-Serums:

10 - 12 Meerschweinchen wurden durch Kopfschlag getötet, ihre Karotiden mit einem Scherenschlag eröffnet und das ausfließende Blut in Zentrifugenröhrchen aufgefangen. Nach Retraktion des Blutkuchens ließ sich das überstehende Serum abpipettieren. Zur Beseitigung der restlichen Erythrozyten wurden die einzelnen Meerschweinchenserum 10 Minuten bei 2500 U/Min. zentrifugiert, zu einem praktisch hämolysefreien Mischserum zusammengegossen und in gleichgroßen Mengen in zwei Meßzylinder aufgeteilt, von denen die eine zur RP-, die andere zur R_3 -Serum-Herstellung Verwendung fand. Diese Aufteilung durfte geschehen, weil Seren, die für die RP-Herstellung geeignet sind, auch brauchbare R_3 -Seren liefern.

Die optimale Zymosanmenge für die RP-Präparation wurde in Veronalpuffer suspendiert, 1 - 2 Minuten mit einem Glasstab homogenisiert und kurz aufgeköcht. Nach Abkühlung und Zentrifugieren (5 Min. bei 2500 U/Min.) mußte der überstehende Puffer abpipettiert werden. Danach wurde das Zymosan mit dem Mischserum eine Stunde lang im Wasserbad bei 15 - 17°C inkubiert (Entwicklung des Properdin-Zymosankomplexes). Die Forderung nach Properdinfreiheit des RP-Serums machte eine zweimalige Wiederholung dieses Reaktionsablaufes mit frischem, in der gleichen Menge zugesetzten Zymosan erforderlich. Nach jeder Inkubation erfolgte eine 15 Minuten dauernde Zentrifugierung des Serums bei 2500 U/Min. bei 15°C. Das entstandene RP-Serum wurde abpipettiert, mit Zymosan reinkubiert bzw. beim letzten Mal nach Abfüllung in Reagenzgläser und ein Uhlenhuth-Röhrchen bis zur Verwendung in einer Tiefkühltruhe aufbewahrt. Auch eine zweimalige Zymosanbehandlung des Serums führte zu einem brauchbaren RP-Serum.

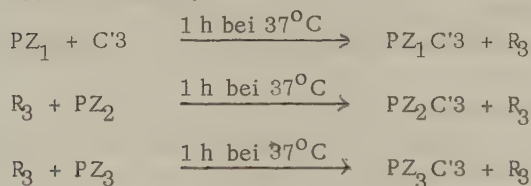
Der obige Reaktionsablauf sei kurz zusammengefaßt:



Der dreimalig anfallende Bodensatz, der Properdin-Zymosankomplex, wurde mit Veronalpuffer übergossen und zur R_3 -Herstellung aufgehoben.

IV. Herstellung des R_3 -Serums:

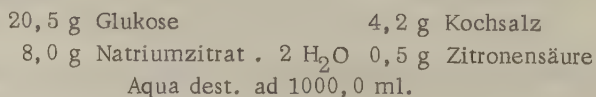
Der zweite Teil des Mischserums, der, wie oben erwähnt, bei der R_3 -Serum-Bereitung Verwendung finden sollte, wurde mit den jeweiligen Properdin-Zymosankomplexen in der Reihenfolge PZ_1 , PZ_2 und PZ_3 inkubiert. Die Arbeitsvorgänge verliefen genau wie bei der RP-Herstellung. Dreimalige Seruminkubation von je einer Stunde in einem Wasserbad von 37°C unter fortwährendem Umrühren mit einem Rührmotor. Das entstandene R_3 -Serum wurde in Reagenzgläsern und einem Uhlenhuth-Röhrchen in der Tiefkühltruhe aufbewahrt. Der Reaktionsablauf läßt sich wie folgt zusammenfassen:



Die abzentrifugierten Bodensätze wurden verworfen. Das R_3 -Serum unterschied sich nur durch seinen Properdin- und $C'3$ -Titer-Verlust von einem normalen Serum.

V. Herstellung des hämolytischen Systems:

Nach steriler Punktion der Hammelhalsvene und Defibrinierung des entnommenen Blutes durch Schütteln mit Glasperlen erfolgte nach Abgießen des Serums eine Zugabe Alsever'scher Lösung zu den Hammelblutkörperchen. Dieser Puffer, der einen pH von 6,1 hat, setzt sich wie folgt zusammen:



Die Suspension aus Hammelerythrozyten und Pufferlösung war vor dem Gebrauch zwei Tage lang bei 1°C im Eisschrank aufbewahrt worden und konnte mehrmals bei Versuchen benutzt werden, sofern die Sterilität erhalten blieb. Das hämolytische System setzt sich aus Erythrozyten, Ambozeptor und Veronalpuffer zusammen. Nach Abgießen der Alsever-Lösung mußten die Hammelblutkörperchen zweimal mit physiologischer Kochsalzlösung und einmal mit Veronalpuffer gewaschen werden. Die Versetzung mit Veronalpuffer war solange zu wiederholen, bis die über den Erythrozyten stehende Flüssigkeit vollkommen klar war. Danach wurde eine 1,2%-ige Erythrozytenaufschwemmung in Veronalpuffer hergestellt. Eine gleichgroße Puffermenge, mit sterilem Ambozeptor (aus den Behringwerken, Marburg/Lahn) so versetzt, daß die Lösung pro ml 8 Einheiten (0,01 ml Ambozeptor/20 ml VP) enthielt, wurde mit der Erythrozytensuspension zusammengeschüttet und zur Sensibilisierung der roten Blutkörperchen 10 Minuten bei 37°C im Brutschrank inkubiert. Bei der anschließenden Prüfung des hämolytischen Systems, einer Zentrifugierung von 2,0 ml hämolytischem System und 0,4 ml Veronalpuffer, durfte keine Hämolyse der Hammelerythrozyten auftreten.

Vor jedem Arbeitsgang, der hämolytisches System benötigte, mußte dieses neu hergestellt werden, da unabhängig voneinander angefertigte Systeme in der Zahl ihrer vorhandenen Erythrozyten variieren und die Extinktionswerte der Hämolysen daher starken Schwankungen unterworfen waren.

Prüfung der R-Seren:

Die hergestellten Seren sollten bestimmten von PILLEMER aufgestellten Anforderungen entsprechen. Ein für die Properdintitration geeignetes RP-Serum mußte folgende Eigenschaften haben:

- 1) Es mußte properdinfrei sein und sämtliche vier Komplementkomponenten in ausreichender Menge enthalten,
- 2) sein C'3-Gehalt mußte mindestens 100 - 120 (über 80) Einheiten/ml Serum betragen,
- 3) es durfte nicht antikomplementär sein.

Eine eigens für diese Untersuchungen in einem Uhlenhuth-Röhrchen getrennt aufbewahrte Menge an RP-Serum wurde aus der Tiefkühltruhe genommen und aufgetaut.

Zu 1):

Zum Nachweis der Properdinfreiheit des RP-Serums wurden in Uhlenhuth-Röhrchen vier Verdünnungsreihen (zur Kontrolle doppelte Ausführung der Testansätze) hergestellt. In jedes Röhrchen kamen 0,1 ml mit Veronalpuffer bis 1 : 16 laufend verdünntes Testserum. Anschließend wurde allen Verdünnungsstufen in dem einen Testansatz (zwei Reihen) Zymosan, das vorher homogenisiert und kurz aufgeköcht worden war, in konstanter Menge von 1 mg in 0,1 ml Veronalpuffer hinzupipettiert, während die beiden anderen Reihen ohne Zymosan blieben. Um die C'3-Komponente zum limitierenden Faktor in dieser Reaktion zu machen, war eine Beschickung aller Röhrchen mit 0,1 ml R_3 -Serum erforderlich. Nach einer einstündigen Inkubation bei 37°C im Brutschrank, in der das Reaktionsgemisch alle 10 Minuten zur besseren Verteilung und Einwirkung des Zymosans auf das RP-Serum geschüttelt werden mußte, erfolgte die Einpipettierung des hämolytischen Systems (2,0 ml in jedes Röhrchen) und eine 30 Minuten dauernde zweite Inkubation bei 37°C. In diesem Zeitraum konnte das Komplement, wenn es nicht an den Properdin-Zymosankomplex des Testserums gebunden wurde, die Erythrozyten hämolysieren. Die darauffolgende 10-minutige Zentrifugierung aller Röhrchen zeigte, ob bei gleichen Verdünnungsgraden gleiche Hämolyseintensitäten auftraten, ein Ergebnis, das für Properdinfreiheit des RP-Serums sprach. Enthielt das Testserum aber noch Properdin, so wurde das Komplement an den PZ-Komplex gebunden und die Hämolyse konnte nicht eintreten. Bei negativem Ausfall der Probe mußte das RP-Serum, wie oben bei der R-Seren-Herstellung beschrieben, noch einmal mit der optimalen Zymosanmenge inkubiert und erneut geprüft werden.

Zu 2):

0,1 ml des laufend mit Veronalpuffer bis 1 : 16 verdünnten RP-Serums wurden in zwei Verdünnungsreihen einpipettiert. Da der Reaktionsablauf kein Zymosan erforderte, durfte das hämolytische System (2,0 ml) sofort dem RP-Serum zugesetzt werden. Nach einer Inkubation von 30 Minuten Dauer und einer 10 Minuten währenden Zentrifugierung bei 2500 U/Min. wies das Testserum noch bei einer Verdünnung von 1 : 16 eine deutliche Hämolyse auf. Dieser Befund bestätigte einen ausreichend hohen C'3-Titer. Die Prüfung erbrachte dasselbe Ergebnis bei Zusatz von R_3 -Serum zum RP-Serum.

Zu 3):

Die Prüfung auf antikomplementäre Eigenschaften des RP-Serums beruhte auf einer Vergleichsuntersuchung der hämolytischen Aktivitäten mehrerer mit Veronalpuffer 1 : 4 verdünnter Humansenen und deren Kombination mit dem Test-

serum. Korrespondierende Uhlenhuth-Röhrchen hatten gleiche Farbintensitäten, wenn das Prüfserum nicht antikomplementär war. Hatte aber die Mischung aus menschlichem Aktivserum und Testserum eine geringere hämolytische Extinktion, so lag eine antikomplementäre Wirkung vor. Die Beschickung der Röhrchen erfolgte so, daß die eine Versuchsreihe nur 0,1 ml 1 : 4 verdünntes Humanserum, die andere hingegen noch 0,1 ml RP-Serum bekam. Beide Testansätze waren zur Kontrolle doppelt ausgeführt. Der weitere Versuchsablauf war der gleiche wie in 1) und 2).

Prüfung des R_3 - Serums:

Ein geeignetes R_3 -Serum mußte folgenden Anforderungen entsprechen:

- 1) Es mußte properdinfrei sein und die Komplementkomponenten C'1, 2 und 4 besitzen,
- 2) es durfte keine Hämolyse von sensibilisierten Erythrozyten hervorrufen,
- 3) es durfte nicht antikomplementär wirken,
- 4) es mußte die hämolytische Aktivität einer gleichen Menge 1 : 15 verdünnten Frischserums um den Faktor 2 anwachsen lassen, d.h. die Hämolyse, die durch eine Kombination der beiden Seren ausgelöst wurde, sollte eine doppelt so hohe Extinktion zeigen, wie die allein durch Aktivserum hervorgerufene.

Zu 1):

Die Prüfung der Properdinfreiheit wurde nach demselben Verfahren, wie beim RP-Serum beschrieben, ausgeführt. In zwei doppelten Testansätzen erhielten die Uhlenhuth-Röhrchen von vier Verdünnungsreihen 0,1 ml laufend mit Veronalpuffer verdünntes R_3 -Serum und 0,1 ml 1 : 15 verdünntes RP-Serum. Die Hälfte der Versuchsreihen bekam noch 1 mg Zymosan in 0,1 ml Veronalpuffer. Bei der Auswertung der Testung mußten gleiche Verdünnungsstufen gleiche Hämolyseextinktionen zeigen, wenn das R_3 -Serum properdinfrei war. Das Testserum genügte in diesem Punkt der Anforderung.

Zu 2):

Die Ermittlung des Verdünnungsgrades, bei dem das R_3 -Serum keine Hämolyse mehr hervorrief, erfolgte durch Aufstellung zweier Verdünnungsreihen des Testserums und anschließender Beschickung der Röhrchen mit 2,0 ml hämolytischen Systems. Diese Grenzverdünnung des R_3 -Serums wurde zur Prüfung auf antikomplementäre Wirkung und Aktivitätserhöhung eines Frischserums angewandt.

Zu 3) und 4):

Die beiden letzten Forderungen konnten in einem Versuchsgang geprüft werden, da seine Auswertung die durch beide Kriterien aufgeworfenen Fragen beantwortete. In die Röhrchen der einen Versuchsreihe wurde 0,1 ml 1:15 verdünntes Aktivserum einpipettiert, während die der anderen Reihe mit 0,1 ml R_3 -Serum in einer Verdünnung, in der es keine Hämolyse mehr bewirkte, inkubiert wurden. Eine Inkubation von 2,0 ml hämolytischen Systems in beide Testansätze schloß sich an. Bei der Extinktionsmessung zeigte es sich, daß die durch die Kombination von R_3 - und Aktivserum ausgelöste Hämolyse doppelt so stark war. Damit konnte gezeigt werden, daß das Testserum keine antikomplementäre Wirkung hatte und die Forderung von Punkt 4), nämlich die Steigerung der hämolytischen Aktivität im Frischserum um den Faktor 2, erfüllt war.

Der eigentlichen Properdintitration ging ein Vorversuch, ebenfalls eine Properdinbestimmung, voraus, der einen Hinweis auf den Verdünnungsgrad gab, in dem die beiden R-Seren Verwendung finden konnten. RP-Serum wurde in einer Verdünnung von 1:9, R_3 -Serum in einer von 1:16 benutzt.

Um nicht bei jeder Titration den ganzen R-Serenbestand aus der Tiefkühltruhe entnehmen und auftauen zu müssen, was jedesmal mit einem Komplementverlust verbunden gewesen wäre, wurden RP- und R_3 -Seren in genau bemessene, für einen Arbeitsgang ausreichende kleine Mengen in Uhlenhuth-Röhrchen gefüllt und in der Tiefkühltruhe aufbewahrt.

Bei der Properdintitration kamen 280 Seren von Kaninchen, gewonnen aus 10 Blutentnahmen, zur Auswertung, nämlich im Einzelversuch vor und 12, 24, 48 und 72 Stunden nach der Verfütterung der Testlösungen und im Dauerversuch vor und 24, 48, 72 und 96 Stunden nach der Verfütterung. Bei jedem Arbeitsgang konnten 14 Seren ausgetestet werden. Da die im Kaninchenserum vorhandene Properdinmenge unbekannt war, mußten Verdünnungsreihen aufgestellt werden. Die Testseren wurden mit Veronalpuffer bis 1:64 verdünnt. Der Inhalt aller Uhlenhuth-Röhrchen setzte sich aus 0,1 ml des jeweiligen, durch Überpipettierung mit Veronalpuffer laufend verdünnten Testserums, 0,1 ml 1:9 verdünnten RP-Serums, 0,1 ml 1:16 verdünnten R_3 -Serums und aus 1 mg Zymosan in 0,1 ml Veronalpuffer zusammen. Die Zymosansuspension war vorher durch Umrühren in Pufferlösung homogenisiert und danach kurz aufgeköcht worden. Zur Verminderung des Pipettierfehlers wurde jeder einzelne Testansatz doppelt ausgeführt. Der Einpipettierung des Reaktionsgemisches folgte eine einstündige Inkubation bei 37°C im Brutschrank, während der die Röhrchen alle 10 Minuten zur besseren Durchmischung von Zymosan und

Testserum zu schütteln waren. Die Beschickung mit 2,0 ml hämolytischen Systems, nochmalige 30-minütige Inkubation bei 37°C und eine 15 Minuten dauernde Zentrifugierung der Röhrchen bei 2500 U/Min. schlossen sich an.

Zur besseren Übersicht sei die Versuchsanordnung nochmals schematisch dargestellt:

Alle Röhrchen wurden beschickt mit

0,1 ml Testserum	(mit Veronalpuffer 1 : 2, 1 : 4, 1 : 8, 1 : 16, 1 : 32, 1 : 64 verdünnt)
0,1 ml RP-Serum	(mit Veronalpuffer 1 : 9 verdünnt)
0,1 ml R ₃ -Serum	(mit Veronalpuffer 1 : 16 verdünnt)
0,1 ml Zymosansuspension	(1 mg Z/0,1 ml Veronalpuffer)

Einstündige Inkubation der Röhrchen bei 37°C,
Einpipettierung von 2,0 ml hämolytischen Systems,
Inkubation für 30 Minuten bei 37°C,
15 Minuten dauernde Zentrifugierung bei 2500 U/Min.

Niedrige Verdünnungsgrade des Testserums bewirkten keine Hämolyse, da das vorhandene Properdin mit dem Zymosan den PZ-Komplex bildete, der bei 37°C die dritte Komplementkomponente inaktivierte; erst stärkere Verdünnungen des Kaninchenserums lösten eine Hämolyse der sensibilisierten Erythrozyten aus. Die durch das Komplement hervorgerufene Auflösung der roten Blutkörperchen weist nur im Bereich der 50%-Hämolyse ein annähernd proportionales Verhalten zwischen Komplementmenge und Hämolysegrad auf (KABAT, MAYER).

Zur Messung der Properdineinheiten ist ein sog. 50%-Hämolysestandard erforderlich, da laut Definition eine Properdineinheit (PE) pro ml Serum der reziproke Wert derjenigen Serumverdünnung im Testansatz ist, deren Extinktion bei der photometrischen Messung mit der eines 50%-Hämolysestandards übereinstimmt (ISLIKER, LINDER). Zur Herstellung der 50%-Hämolyse dienten 1,4 ml Veronalpuffer, 1,0 ml hämolytisches System und einige Körnchen Saponin, die eine vollständige Auflösung der Erythrozyten hervorriefen. Bei richtiger Zusammensetzung hatte sie einen Extinktionswert um 0,3 gegen Aqua dest. und um 0,26 gegen einen Nullwert gemessen. Die Extinktionsmessung aller Verdünnungsstufen erfolgte im Photometer "Eppendorf". Nach der Verdünnung von 1 ml Testlösung mit 2,0 ml Aqua dest. in einer Cuvette mittels einer Cornwallspritze, die für eine gute Durchmischung beider Stoffe sorgte, wurde im Einzelversuch gegen Aqua dest., im Dauerversuch sowohl

gegen Aqua dest. als auch gegen einen sich aus 0,1 ml Kaninchenserum, 0,1 ml RP-Serum, 0,1 ml R_3 -Serum, 0,1 ml Zymosansuspension und 2,0 ml "hämolytischem System" ohne Erythrozyten zusammensetzenden Nullwert gemessen.

Die Ermittlung der 50%-Hämolysen-Einheit, einer Serumverdünnung, die eine 50%-Hämolysen auslöst, erfolgte graphisch auf doppelt logarithmischem Millimeterpapier, indem auf der Ordinate die Hämolysenwerte (in %) und auf der Abszisse die Serumverdünnungen aufgetragen wurden. Die Extinktionswerte zweier Verdünnungsstufen eines Testansatzes, der eine über, der andere unter dem Wert der 50%-Hämolysen, mußten auf dem Millimeterpapier eingetragen und durch eine Gerade miteinander verbunden werden, welche die waagrechte Linie des 50%-Hämolysenstandards in einem Punkt schnitt. Die Projektion dieses Punktes auf die Abszisse ergab die Anzahl der Properdineinheiten pro ml Testserum.

4. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

1) Versuche mit Einzelgabe der Testlösungen

Die Ergebnisse dieser Versuchsserie sind in Tabelle 1 - 4 wiedergegeben.

Tabelle 1

Properdintiter nach einmaliger Gabe von sogenanntem Edelwein
(Angabe des Properdintiters in Einheiten)

Tier Nr.	Stunden nach Versuchsbeginn				
	0	12	24	48	72
1	9,3	16,4	5,9	7,2	10,0
2	10,5	18,75	5,5	6,25	11,6
3	9,0	16,9	3,75	5,25	8,75
4	12,2	20,5	3,35	6,95	12,9
5	9,95	20,25	6,8	7,4	12,0
6	11,15	15,25	2,7	4,0	11,6
7	9,4	15,4	3,7	6,0	9,65
Mittelwerte	10,2	17,63	4,53	6,15	10,93

Tabelle 2

Properdintiter nach einmaliger Gabe von wässriger Äthanollösung
(Angabe des Properdintiters in Einheiten)

Tier Nr.	Stunden nach Versuchsbeginn				
	0	12	24	48	72
1	5,85	10,3	12,7	3,6	6,1
2	4,85	12,0	14,8	6,4	10,7
3	6,9	11,75	13,25	5,5	7,15
4	7,05	9,9	14,0	3,25	6,85
5	6,75	8,9	13,5	3,1	6,1
6	7,95	11,0	14,4	3,25	5,75
7	4,35	10,25	13,25	3,6	5,95
Mittelwerte	6,24	10,6	13,7	4,08	6,94

Tabelle 3

Properdintiter nach einmaliger Gabe von weißem Hybridenwein
(Angabe des Properdintiters in Einheiten)

Tier Nr.	Stunden nach Versuchsbeginn				
	0	12	24	48	72
1	7,7	14,35	3,8	3,4	6,7
2	7,6	13,85	7,15	4,8	7,7
3	6,45	12,4	3,45	2,6	5,8
4	8,8	13,5	6,85	3,85	9,1
5	8,1	14,05	7,85	5,6	7,45
6	9,2	14,45	10,85	6,85	8,6
7	7,25	12,0	4,75	4,15	7,35
Mittelwerte	7,87	13,51	6,38	4,46	7,53

Tabelle 4

Properdintiter nach einmaliger Gabe von rotem Hybridenwein
(Angabe des Properdintiters in Einheiten)

Tier Nr.	Stunden nach Versuchsbeginn				
	0	12	24	48	72
1	7,05	13,35	7,65	8,85	7,45
2	10,4	16,75	7,6	9,6	8,8
3	11,8	20,05	8,7	11,2	9,2
4	9,15	15,15	9,35	12,0	10,3
5	9,35	16,2	8,65	9,7	7,35
6	9,95	19,1	7,4	10,15	9,1
7	10,35	15,5	6,55	7,7	5,6
Mittelwerte	9,72	16,6	7,98	9,9	8,25

Anmerkung: Alle Werte wurden gegen Aqua dest. gemessen.

Die in Tabelle 1 - 4 wiedergegebenen Resultate sind in Abbildung 1 - 11 graphisch dargestellt. Aus sämtlichen Einzelkurven ist deutlich zu erkennen, daß die Kurven bei den einzelnen Tieren eines jeden Kollektivs gleichsinnig verlaufen, also gut übereinstimmen. Damit ist eine prinzipielle Aussage möglich. Die geringen Unterschiede von Kurve zu Kurve innerhalb eines Kollektivs entsprechen der individuellen Streuung. Die in Abbildung 11 wiedergegebenen Sammelkurven für die einzelnen Kollektive zeigen, daß bei allen Weinen ein primärer Anstieg des Properdintiters im 12-Stunden-Wert aufgetreten ist. In allen Fällen ist dann ein Abfall unter die Norm mit einem darauffolgenden langsamen Wiederanstieg auf Normwerte zu beobachten. In prinzipiell der gleichen Weise reagierten die mit der wässrigen Äthanollösung behandelten Tiere, jedoch mit dem Unterschied, daß die Spitze des Titeranstiegs erst 24 Stunden nach Versuchsbeginn auftrat.

2) Versuche mit mehrmaligen Gaben der Testlösungen

Die Ergebnisse dieser Versuchsserie sind in Tabelle 5 - 8 wiedergegeben. Die Werte wurden nicht nur gegen Aqua dest., sondern auch gegen einen Nullwert gemessen, dessen Zusammensetzung oben angegeben ist.

Tabelle 5

Properdintiter nach mehrmaligen Gaben von sog. Edelwein

(Angabe des Properdintiters in Einheiten)

a) gegen einen Nullwert gemessen

Tier Nr.	Stunden nach Versuchsende				
	0	24	48	72	96
1	7,65	4,99	9,0	11,8	15,1
2	11,45	7,2	9,5	11,5	14,1
3	8,65	6,3	8,8	11,35	13,15
4	12,2	7,3	9,05	10,6	18,0
5	10,37	7,5	8,6	11,15	15,9
6	10,95	7,1	8,4	9,35	19,25
7	9,6	6,45	7,35	10,2	17,0
Mittelwerte	10,12	6,69	8,67	10,85	16,07

b) gegen Aqua dest. gemessen

Tier Nr.	Stunden nach Versuchsende				
	0	24	48	72	96
1	7,6	4,82	8,95	11,65	15,15
2	11,3	6,7	9,15	11,65	13,6
3	8,65	6,2	8,6	10,5	13,1
4	12,0	6,85	9,17	10,85	17,85
5	10,1	7,3	9,25	11,35	15,75
6	11,05	7,05	8,35	9,65	19,5
7	9,4	5,97	7,35	10,15	16,5
Mittelwerte	10,01	6,41	8,7	10,83	15,92

Tabelle 6

Properdintiter nach mehrmaligen Gaben von wässriger Äthanollösung
(Angabe des Properdintiters in Einheiten)

a) gegen den Nullwert gemessen

Tier Nr.	Stunden nach Versuchsende				
	0	24	48	72	96
1	7,2	5,45	5,2	5,95	15,65
2	4,7	3,66	6,85	7,45	12,55
3	6,65	3,55	7,4	10,02	15,45
4	7,1	3,45	6,1	7,25	14,25
5	6,8	3,4	5,9	7,0	11,65
6	7,6	5,0	6,7	9,1	16,1
7	5,4	3,0	5,6	6,8	11,8
Mittelwerte	6,49	3,92	6,25	7,65	13,92

b) gegen Aqua dest. gemessen

Tier Nr.	Stunden nach Versuchsende				
	0	24	48	72	96
1	7,1	5,2	4,95	6,1	15,3
2	4,65	3,45	6,5	7,4	12,35
3	6,5	3,35	7,1	9,85	15,75
4	7,0	3,5	6,1	7,35	14,25
5	6,75	3,2	5,85	7,05	11,15
6	7,5	4,9	6,6	8,5	15,5
7	5,2	2,85	5,55	6,85	11,6
Mittelwerte	6,38	3,78	6,09	7,58	13,7

Tabelle 7

Properdintiter nach mehrmaligen Gaben von weißem Hybridenwein
(Angabe des Properdintiters in Einheiten)

a) gegen den Nullwert gemessen

Tier Nr.	Stunden nach Versuchsende				
	0	24	48	72	96
1	8,15	5,2	4,45	7,35	11,9
2	8,2	7,35	5,42	8,75	13,9
3	7,75	6,3	4,9	7,85	12,8
4	10,2	7,1	2,7	6,6	13,5
5	7,6	7,25	3,7	7,65	14,3
6	9,95	8,65	3,2	8,15	17,55
7	8,7	7,5	3,87	7,4	15,4
Mittelwerte	8,79	7,05	4,03	7,68	14,19

b) gegen Aqua dest. gemessen

Tier Nr.	Stunden nach Versuchsende				
	0	24	48	72	96
1	8,15	5,5	4,25	7,6	11,9
2	8,0	6,5	5,35	8,9	13,85
3	7,65	6,0	4,8	7,3	12,4
4	10,05	6,9	2,52	6,4	13,45
5	7,5	7,05	3,65	7,5	13,95
6	9,55	8,05	3,0	8,35	17,0
7	8,4	7,3	3,8	7,2	15,0
Mittelwerte	8,47	6,75	3,91	7,6	13,93

Tabelle 8

Properdintiter nach mehrmaligen Gaben von rotem Hybridenwein
(Angabe des Properdintiters in Einheiten)

a) gegen den Nullwert gemessen

Tier Nr.	Stunden nach Versuchsende				
	0	24	48	72	96
1	7,55	11,4	7,6	7,95	14,15
2	10,9	15,8	8,85	9,15	18,35
3	12,5	14,5	10,7	11,7	21,25
4	9,05	15,55	10,2	10,0	17,8
5	8,95	12,4	6,6	7,65	16,0
6	10,9	13,55	7,8	10,45	18,25
7	10,9	13,15	7,2	7,35	14,0
Mittelwerte	9,96	13,76	8,42	9,18	17,11

b) gegen Aqua dest. gemessen

Tier Nr.	Stunden nach Versuchsende				
	0	24	48	72	96
1	7,45	10,85	7,3	7,85	13,95
2	10,85	14,4	8,3	9,35	17,15
3	12,55	15,35	10,7	11,35	20,65
4	9,2	14,7	9,5	9,95	17,8
5	9,5	12,15	6,45	7,65	15,75
6	10,75	13,2	7,85	10,25	18,75
7	10,8	12,45	6,95	7,25	13,85
Mittelwerte	10,15	13,3	8,15	9,09	16,84

Die in Tabelle 5 - 8 wiedergegebenen Resultate sind in Abbildung 12 - 22 kurvenmäßig dargestellt. Die graphischen Darstellungen zeigen die gegen den Nullwert gemessenen Properdin-Einheiten. Eine Aufzeichnung der gegen Aqua dest. gemessenen Werte erübrigt sich wegen der Übereinstimmung mit den ersteren.

Auch bei diesem Dauerversuch ergeben die Einzelkurven eines jeden Kollektivs eine sehr gute Übereinstimmung. Die Mittelwertskurven der einzelnen Kollektive sind in Abbildung 22 wiedergegeben.

Aus der Abbildung 22 ist zu entnehmen, daß nach mehrmaligen Gaben von Äthanol bzw. von Edelwein der Properdintiter 24 Stunden nach der letzten Applikation etwas absinkt, um dann reaktiv weit über die Norm wieder anzusteigen. Im Prinzip ist dasselbe der Fall bei Verwendung von weißem Hybridenwein, jedoch mit dem Unterschied, daß der tiefste Kurvenpunkt erst zwei Tage nach dessen letzter Applikation festzustellen war; danach kommt es auch zu einem reaktiven Anstieg des Titers über die Norm. Ganz im Gegensatz zu den drei vorgenannten Testlösungen war bei der Verabreichung des roten Hybridenweines zu beobachten, daß - gerechnet nach der letzten Applikation - ein primärer Anstieg des Properdintiters auftrat. Danach fiel die Kurve nur wenig unter den Ausgangswert ab, um dann reaktiv weit über die Norm anzusteigen.

5. DISKUSSION

Die beschriebenen Versuche sind recht eindeutig. Schwieriger hingegen ist die Deutung der Resultate im Hinblick auf die Praxis, wenn man die Schwankungen des Properdintiters zur Infektabwehr in Beziehung setzen will.

Die Properdintiter bei den einzelnen Tieren eines Kollektivs verliefen bei allen Versuchen gleichsinnig. Eine statistische Berechnung erübrigt sich deswegen. Die Versuche mit sog. Edelwein decken sich mit den Ergebnissen von HUSMANN, von GRAEVENITZ und SPUDAS.

Die Messung der Hämolyse-Extinktionen, die im Dauerversuch sowohl gegen Aqua dest. als auch gegen einen Nullwert erfolgte, brachte keine unterschiedlichen Ergebnisse in der Höhe der gemessenen Properdinwerte.

6. ZUSAMMENFASSUNG

Einmalige Gabe von Äthanol, Edelwein, von je einem weißen und einem roten Hybridenwein führte zu einem primären Anstieg des Properdintiters, der danach reaktiv für kurze Zeit unter die Norm absank.

Nach mehrmaligen Gaben dieser Testlösungen kam es bei den Versuchen mit sog. Edelwein, mit weißem Hybridenwein und mit der wässrigen Lösung von Äthanol zu einem primären Abfall des Properdintiters unter die Norm mit einem nachfolgenden Anstieg des Titors über die Ausgangswerte. Eine Ausnahme bildete der rote Hybridenwein, der auch nach mehrmaligen Gaben zu einem primären Titeranstieg führte. Sein reaktiver Abfall war nicht sehr ausgeprägt.

Abb. 1

Einzelversuch
Edelwein

Properdin
E/ml

20

18

16

14

12

10

8

6

4

2

Tier Nr.

2

1

0

12

24

48

72

Stunden

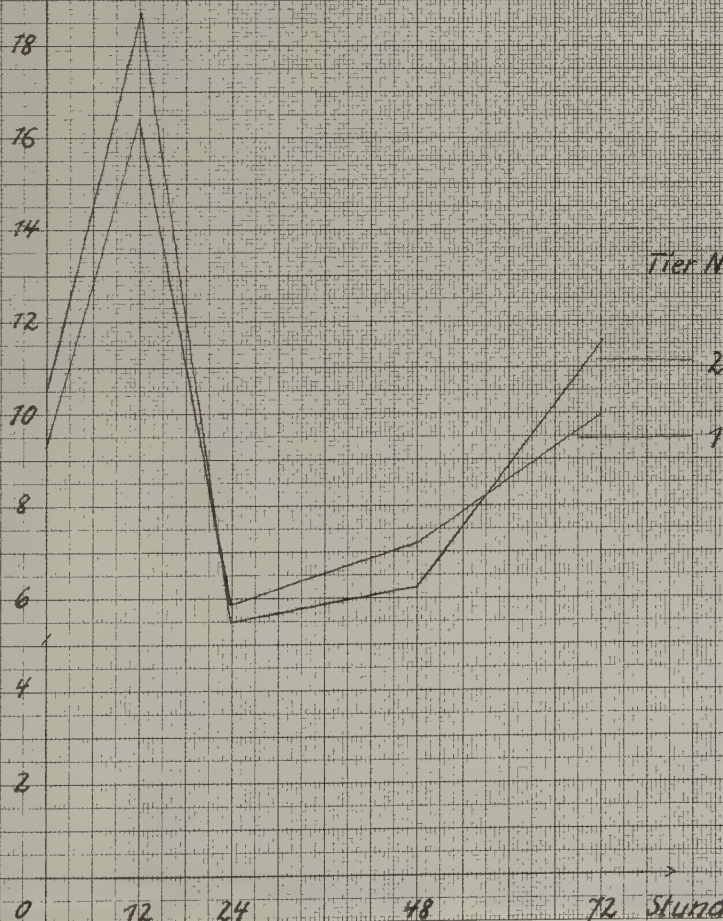
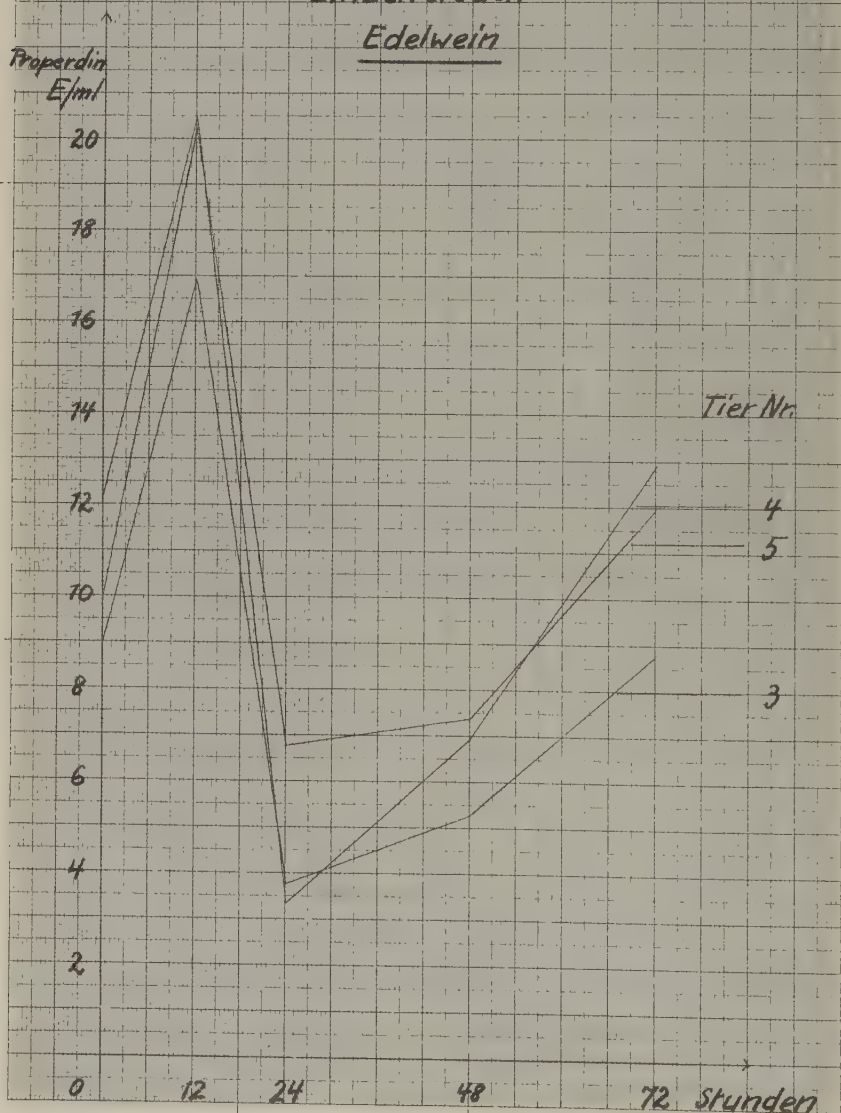


Abb. 2

Einzelversuch

Edelwein



A66.3

Einzelversuch

Edelwein

Propandin
E/ml

20

18

16

14

12

10

8

6

4

2

Tier Nr.

6

7

0

12

24

48

72 Stunden

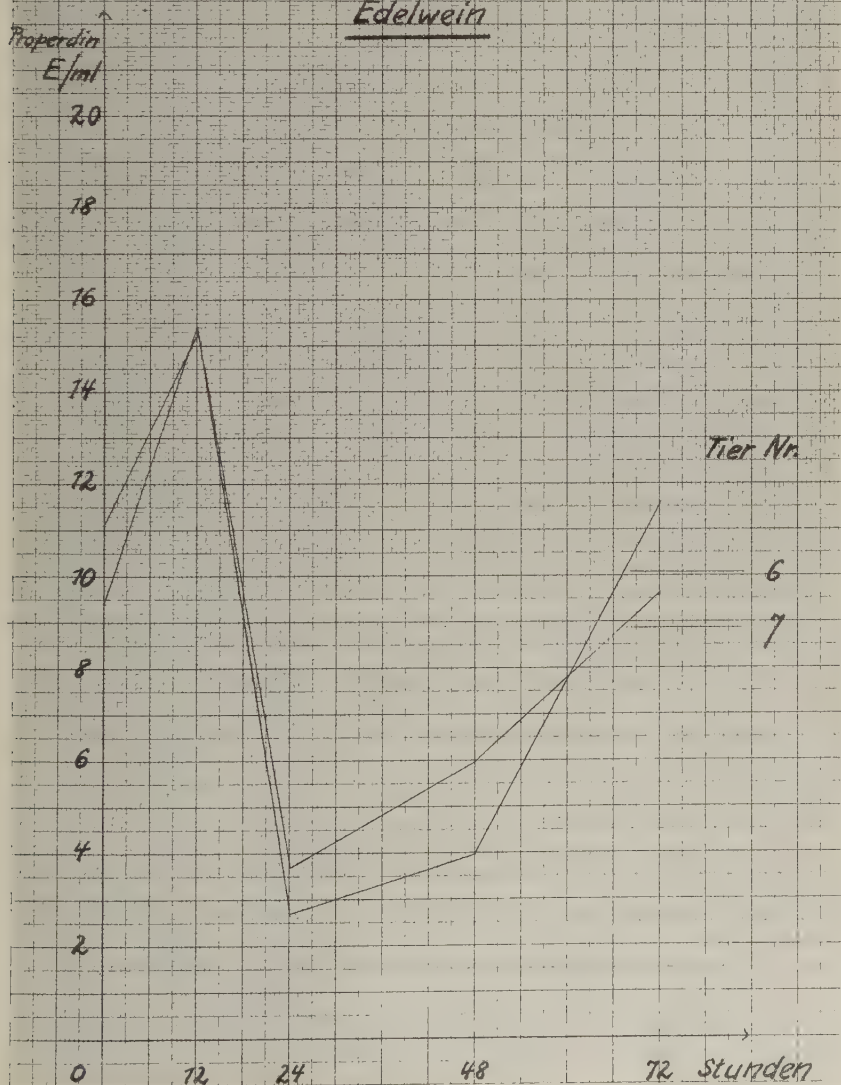


Abb. 4

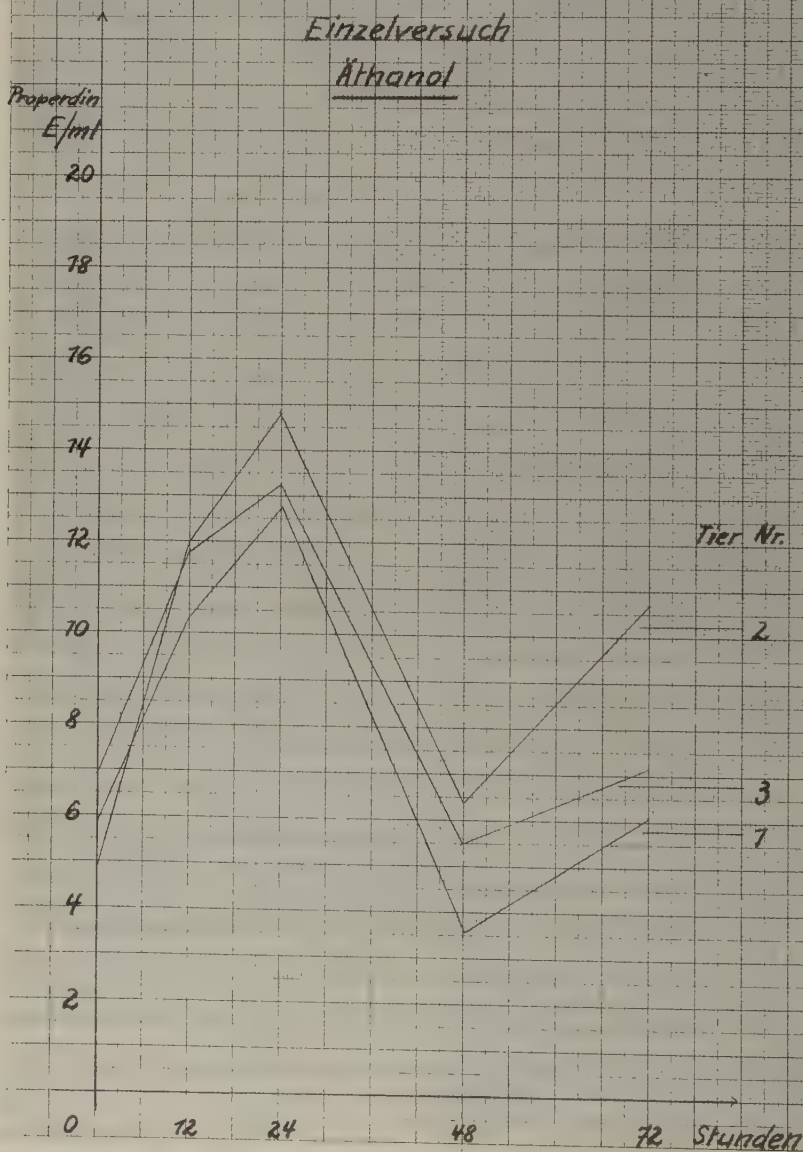


Abb. 5

Einzelversuch

Äthanol

Properdin
E/ml

20

18

16

14

12

10

8

6

4

2

Tier Nr.

4

5

0

12

24

48

72

Stunden

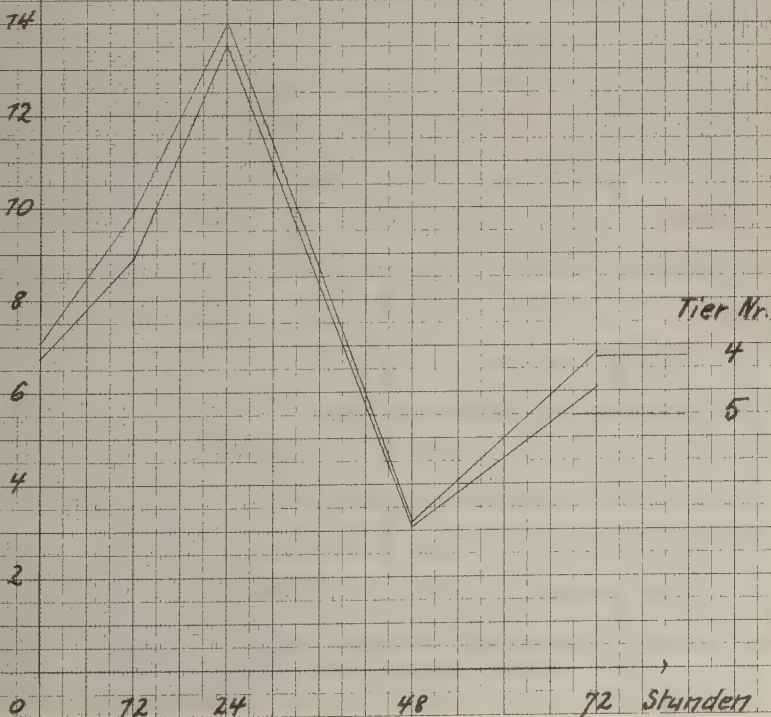


Abb. 6

Einzelversuch
Äthanol

Properdin
E/ml

20

18

16

14

12

10

8

6

4

2

0

12

24

48

72

Stunden

Tier Nr.

7

6

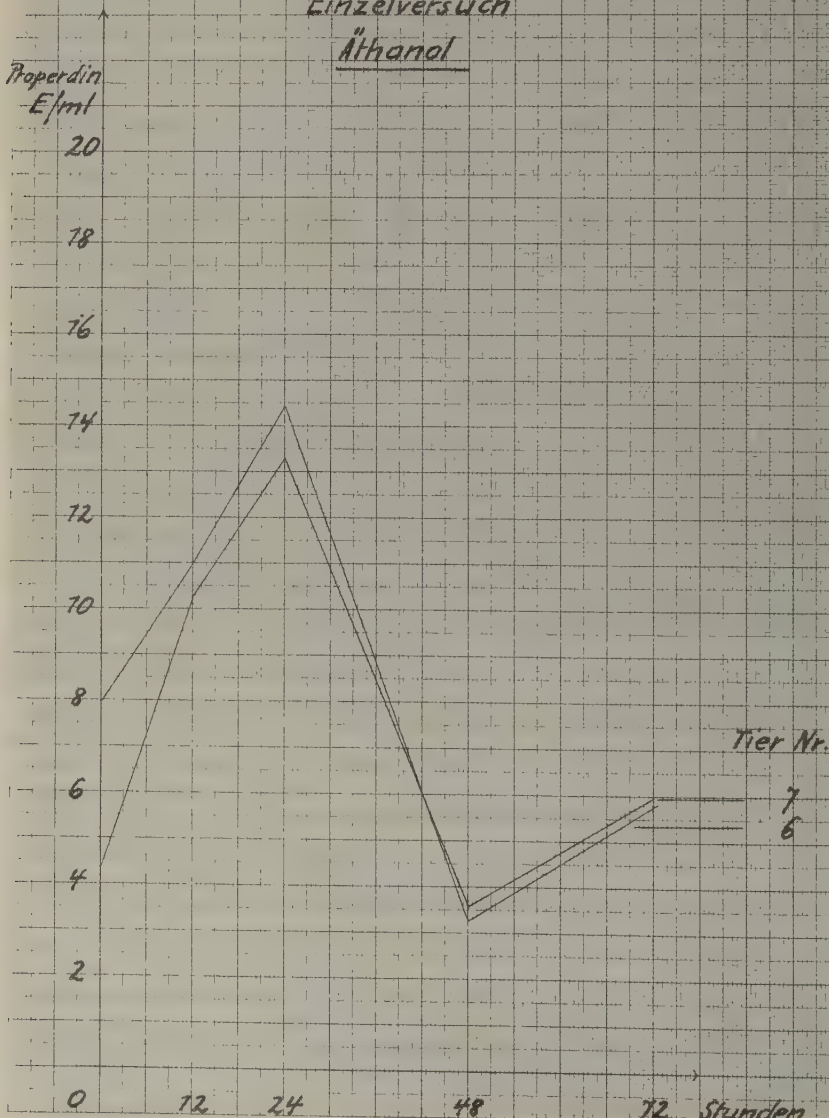


Abb. 7

Einzelversuch
weißer Hybridenwein

Propandien
E/ml

20

18

16

14

12

10

8

6

4

2

Tier Nr.

2

1

3

0

12

24

48

72 Stunden

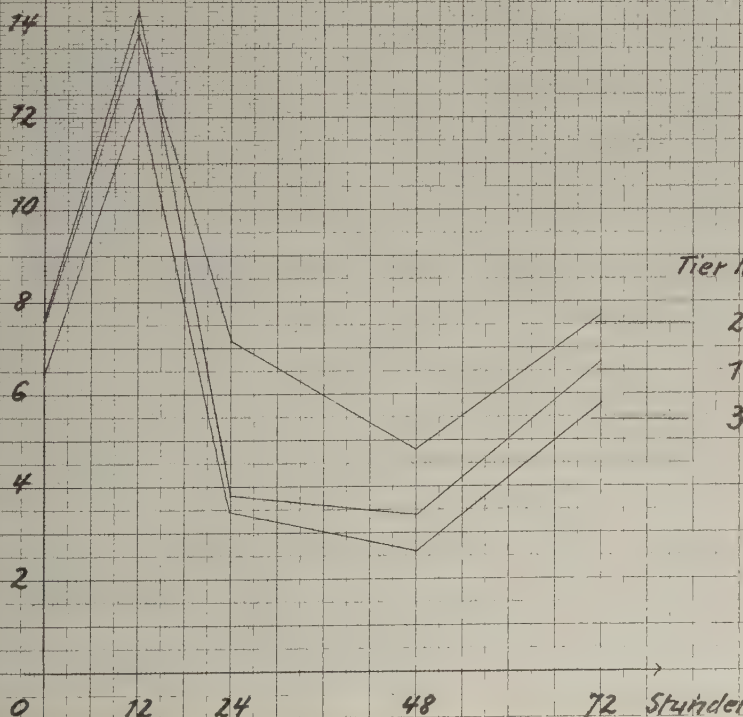


Abb. 8

Einzelversuch
weißer Hybridenwein

Properdin
E/ml

20

18

16

14

12

10

8

6

4

2

Tier Nr.

4

6

5

7

0

12

24

48

72 Stunden

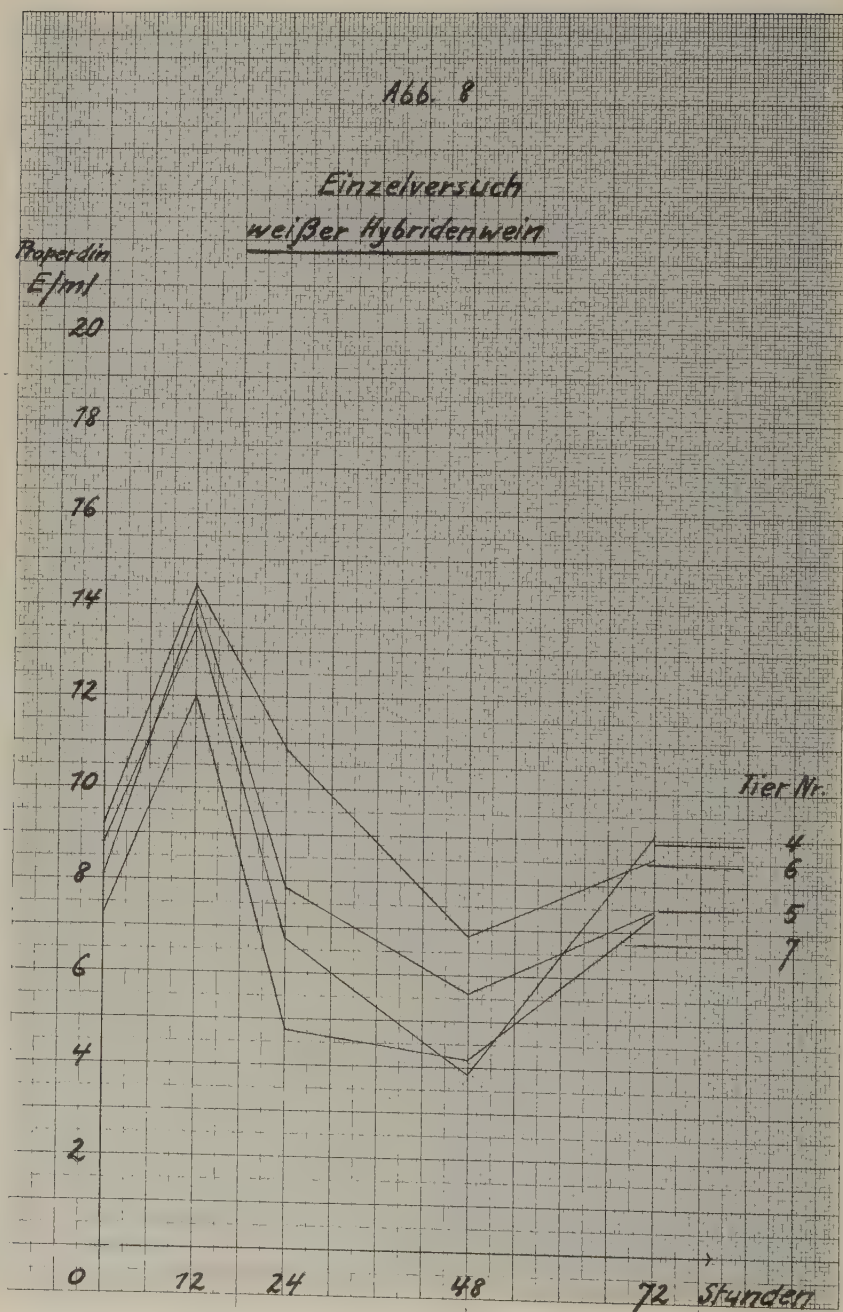


Abb. 9

Einzelversuch
roter Hybridenwein

Propandim
E/ml

Tier Nr

4

3

2

1

0 12 24 48 72 Stunden

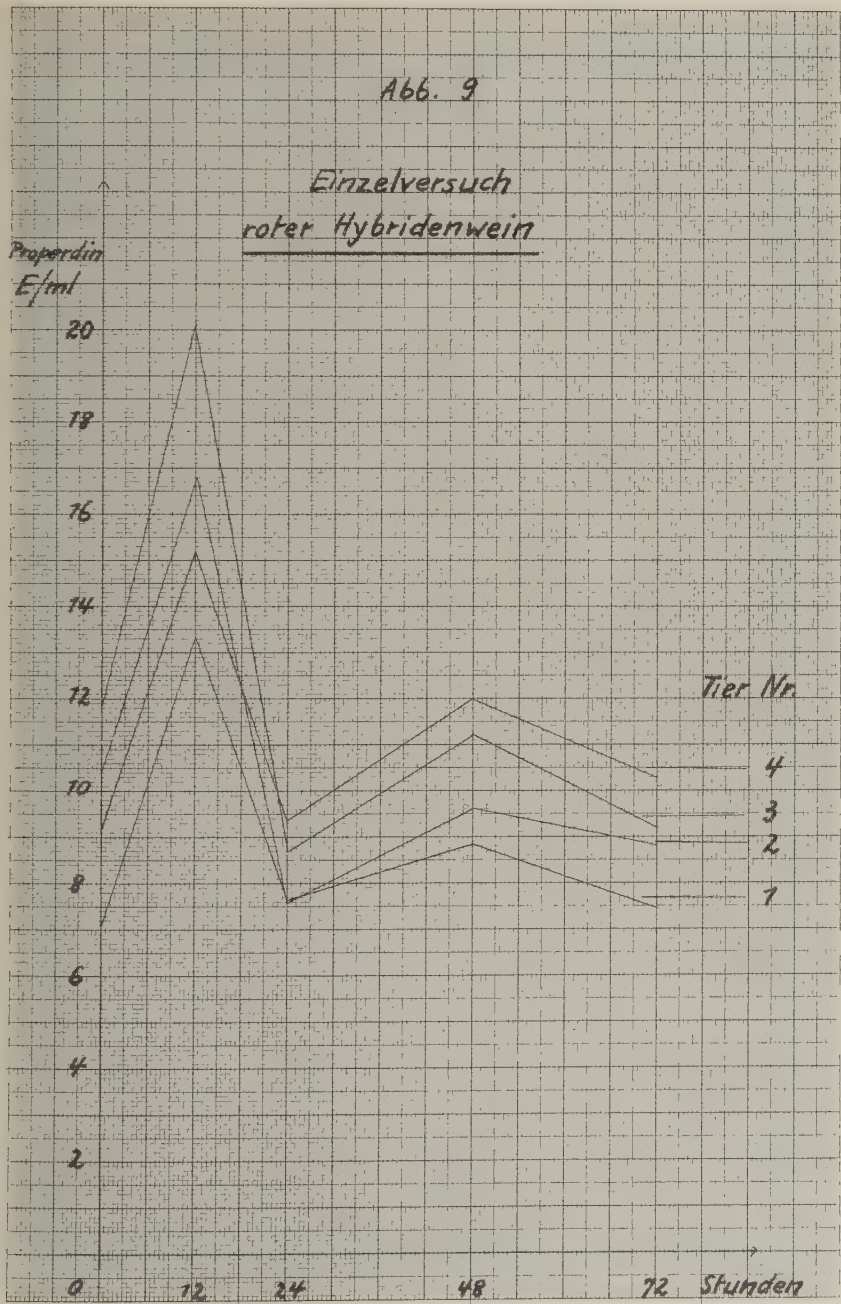


Abb. 10

Einzelversuch
roter Hybridenwein

Properdin
E/ml

20

18

16

14

12

10

8

6

4

2

Tier Nr.

6

5

7

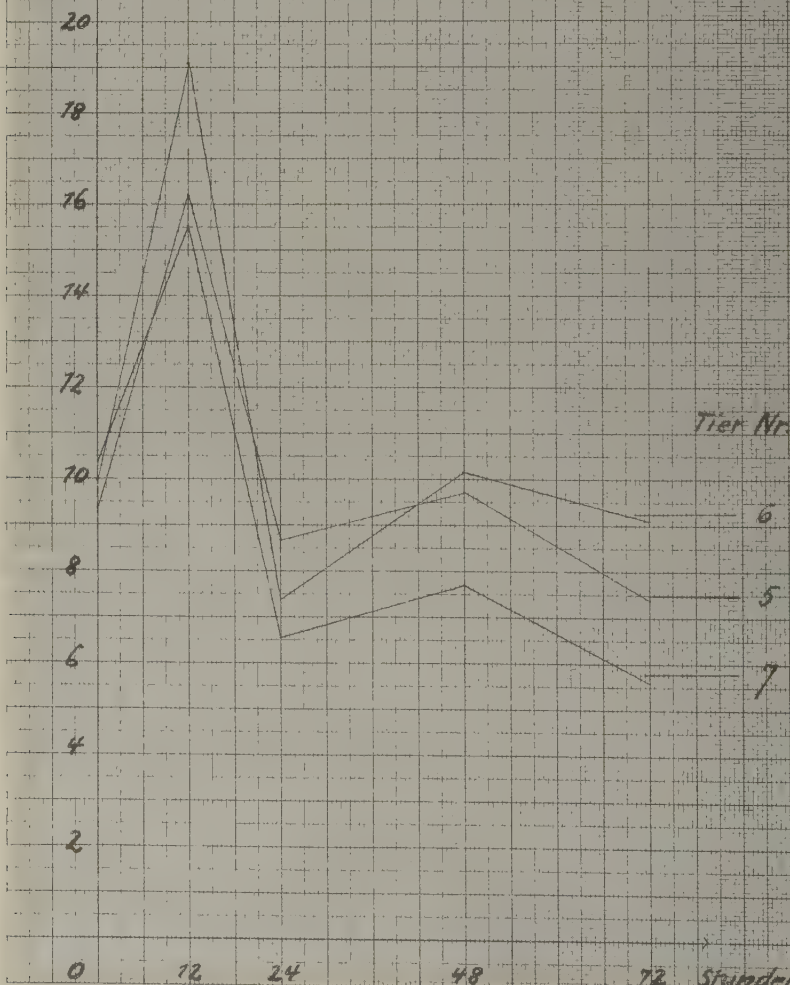
0

12

24

48

72 Stunden



A66.71

Einzelversuch
Zusammenfassung

Trappendin
E/ml

20

18

16

14

12

10

8

6

4

2

Edelwein

roter Hybriden-
wein

weißer Hybriden-
wein

Äthanol

0

12

24

48

72

Stunden

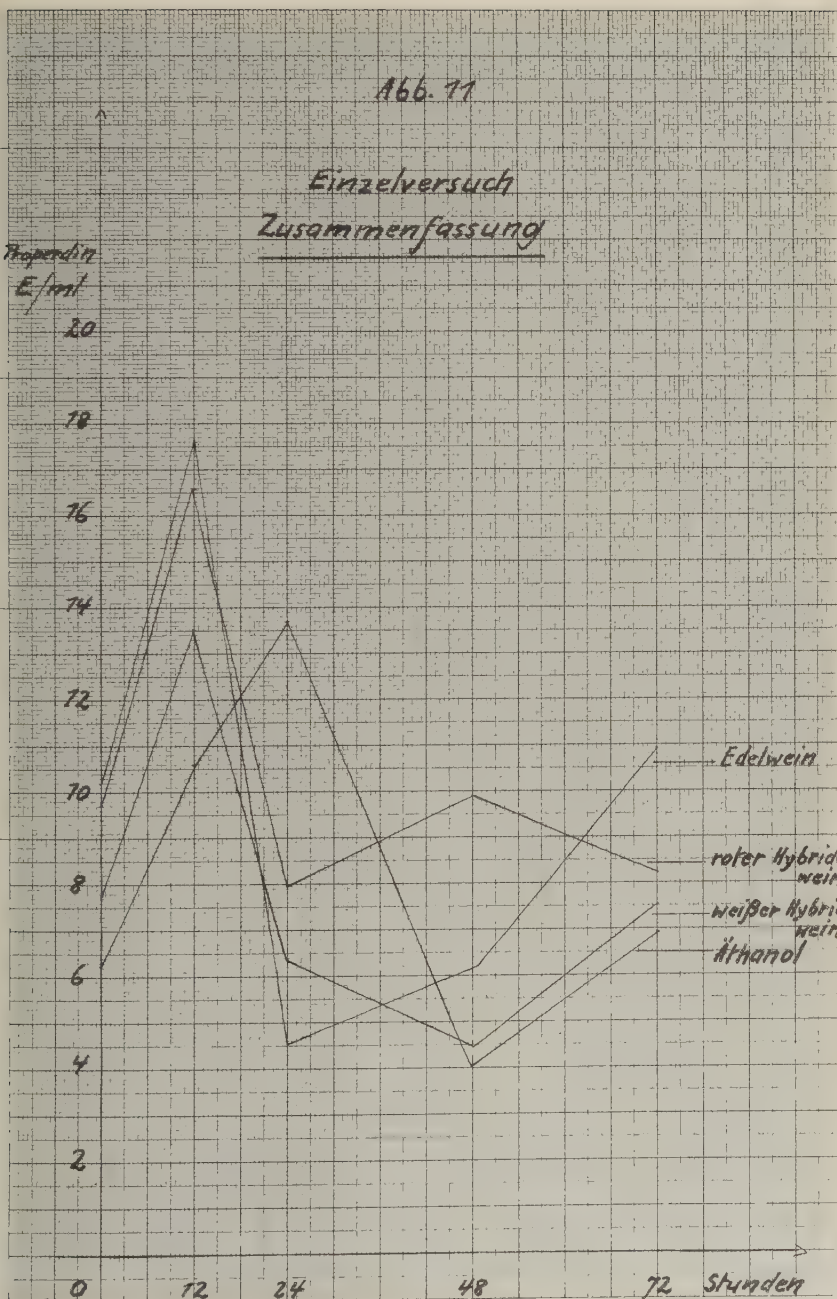


Abb. 72

Dauerversuch
Edelwein

Proz.
pendin
E/ml

20

18

16

14

12

10

8

6

4

2

0

24

48

72

96

Stunden

Tier Nr.

1

2

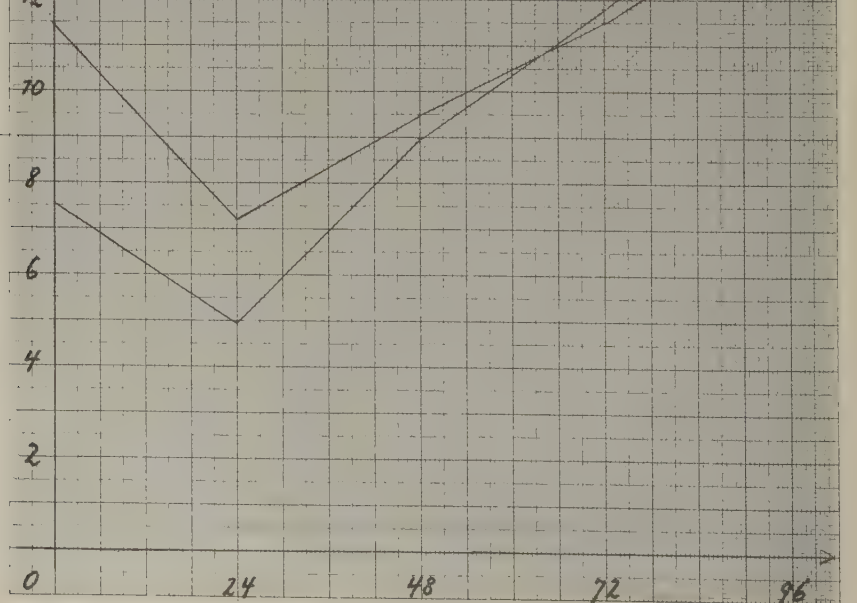


Abb. 13

Dauerversuch
Edelwein

Pro-
perdin
E/ml

Tier Nr.

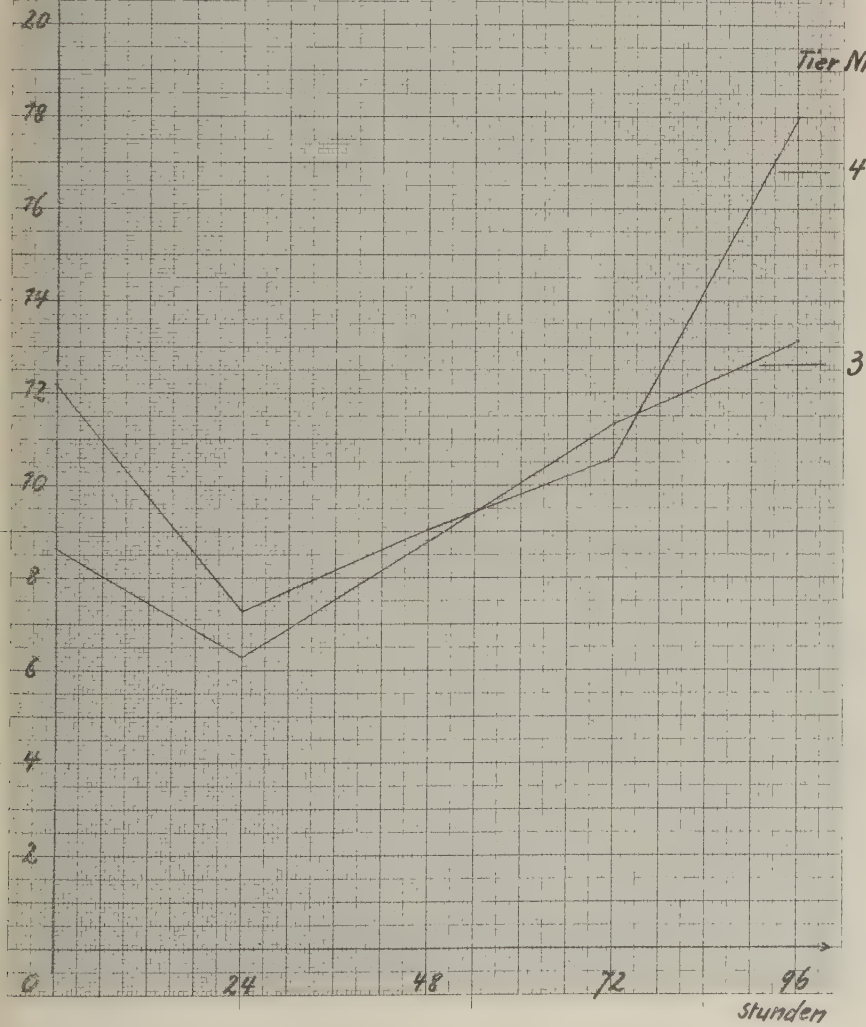


Abb. 14

Dauerversuch
Edelwein

Prä-
perdin
E/ml

Tier Nr.

6

7

5

20

18

16

14

12

10

8

6

4

2

0

24

48

72

96

Stunden

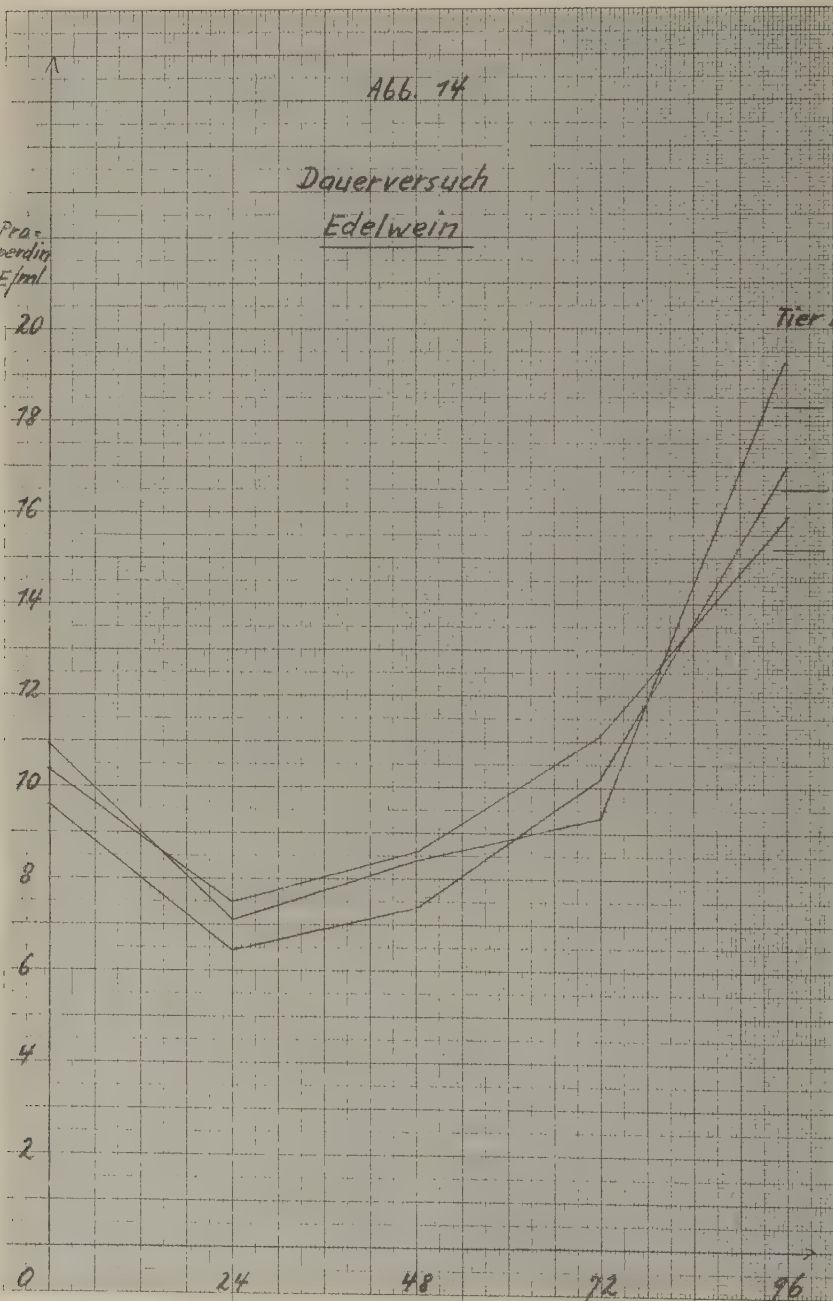


Abb. 15

Dauerversuch
Äthanol

Pro-
zent
Äthanol

20

18

16

14

12

10

8

6

4

2

0

24

48

72

96

Stunden

Tier Nr.

1

2

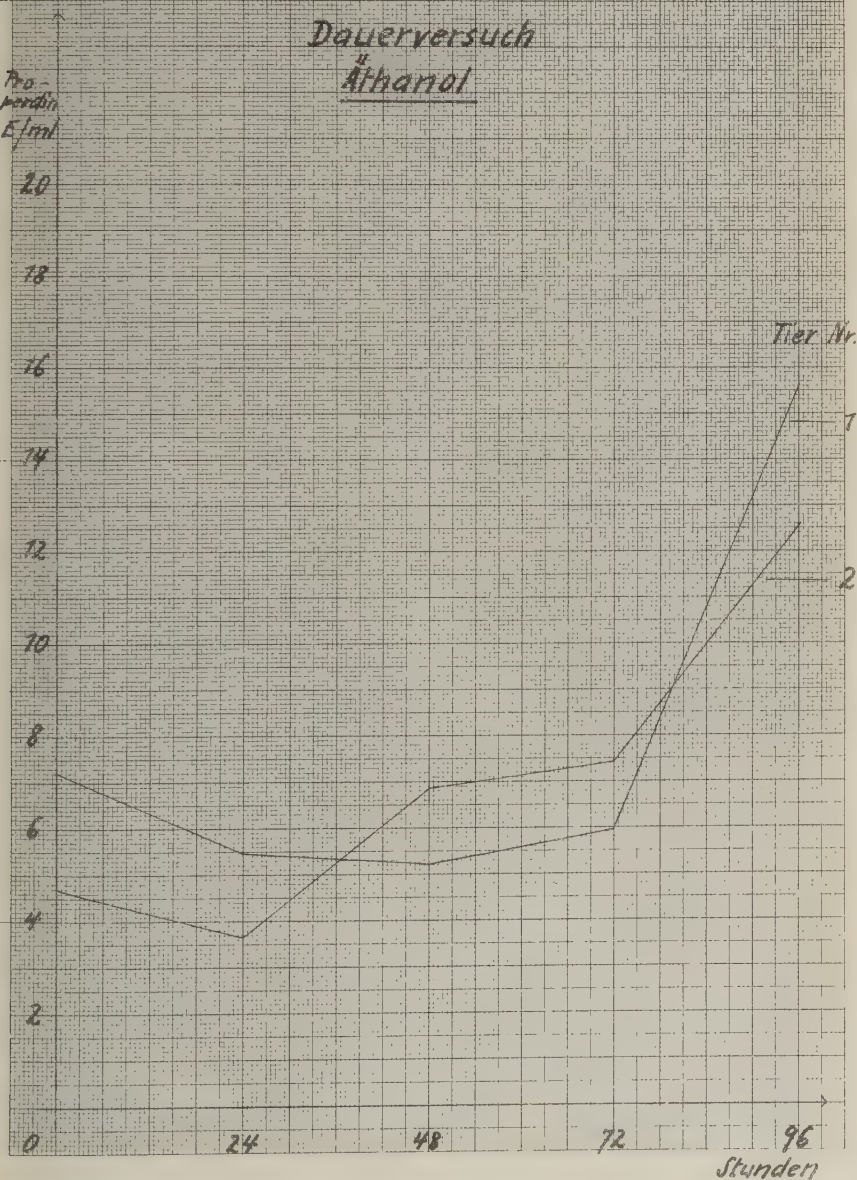


Abb. 16

Dauerversuch
"Äthanol"

Pro-
mordin
E/ml

20

18

16

14

12

10

8

6

4

2

0

24

48

72

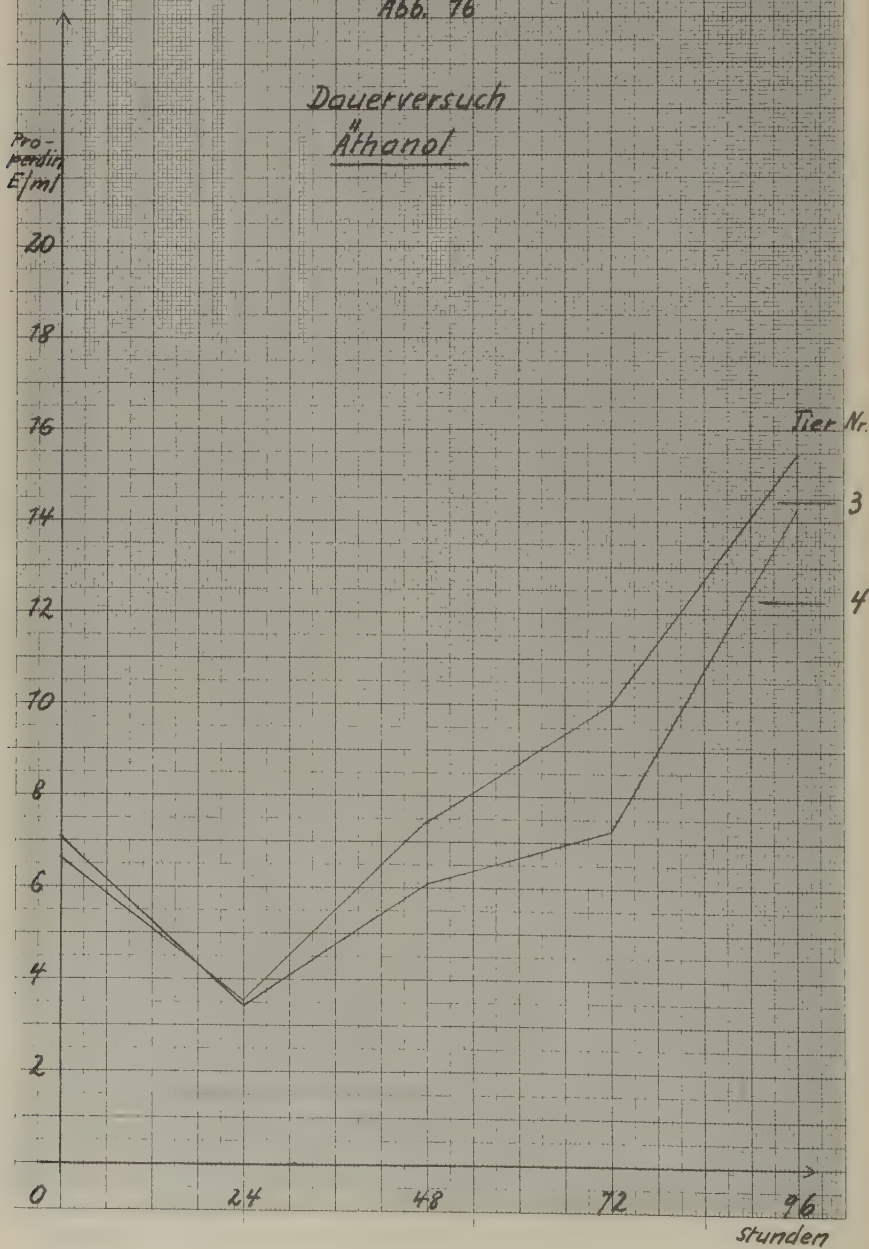
96

Stunden

Tier Nr.

3

4



A66. 17

Dauerversuch
"Äthanol"

Pro-
perdin
E/ml

20

18

16

14

12

10

8

6

4

2

Tier Nr.

6

5

7

0

24

48

72

96

Stunden

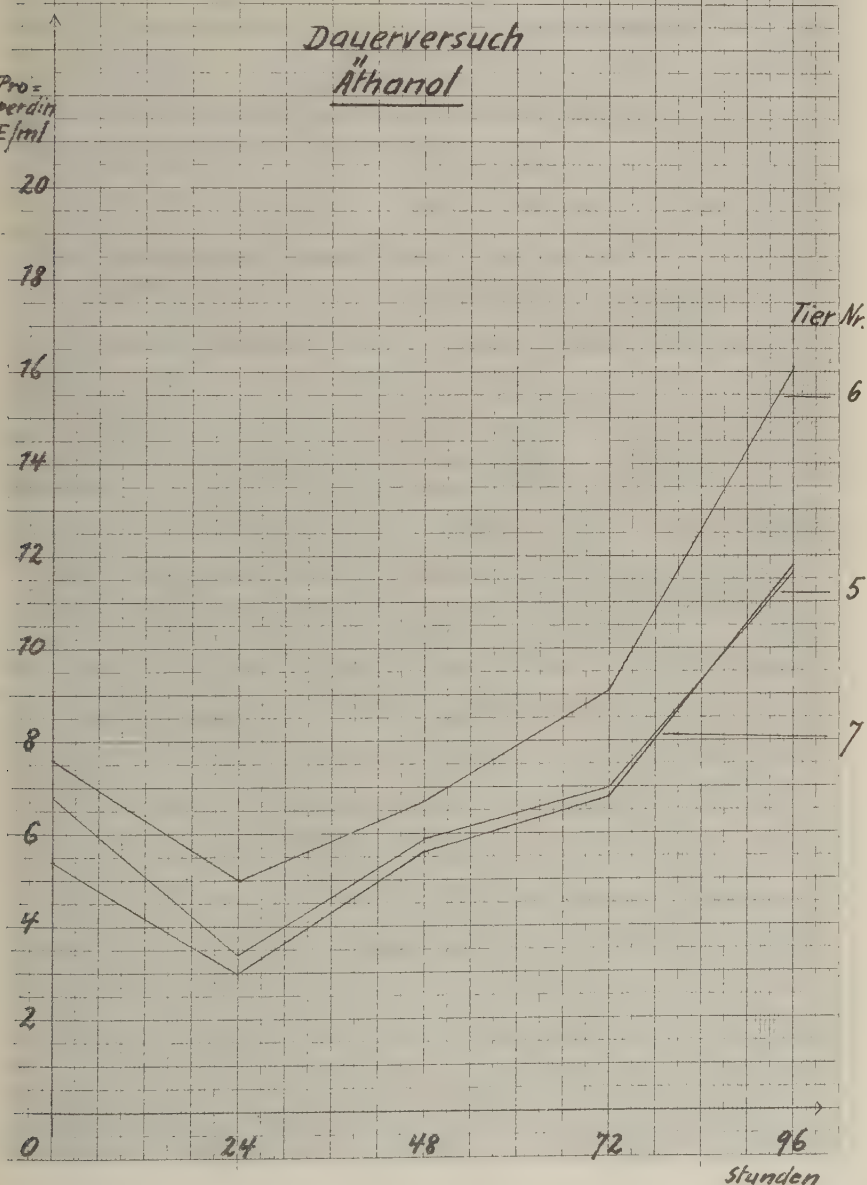


Abb. 78

Dauerversuch
weißer Hybridenwein

Pro-
pandiz
E/ml

20

18

16

14

12

10

8

6

4

2

0

24

48

72

96

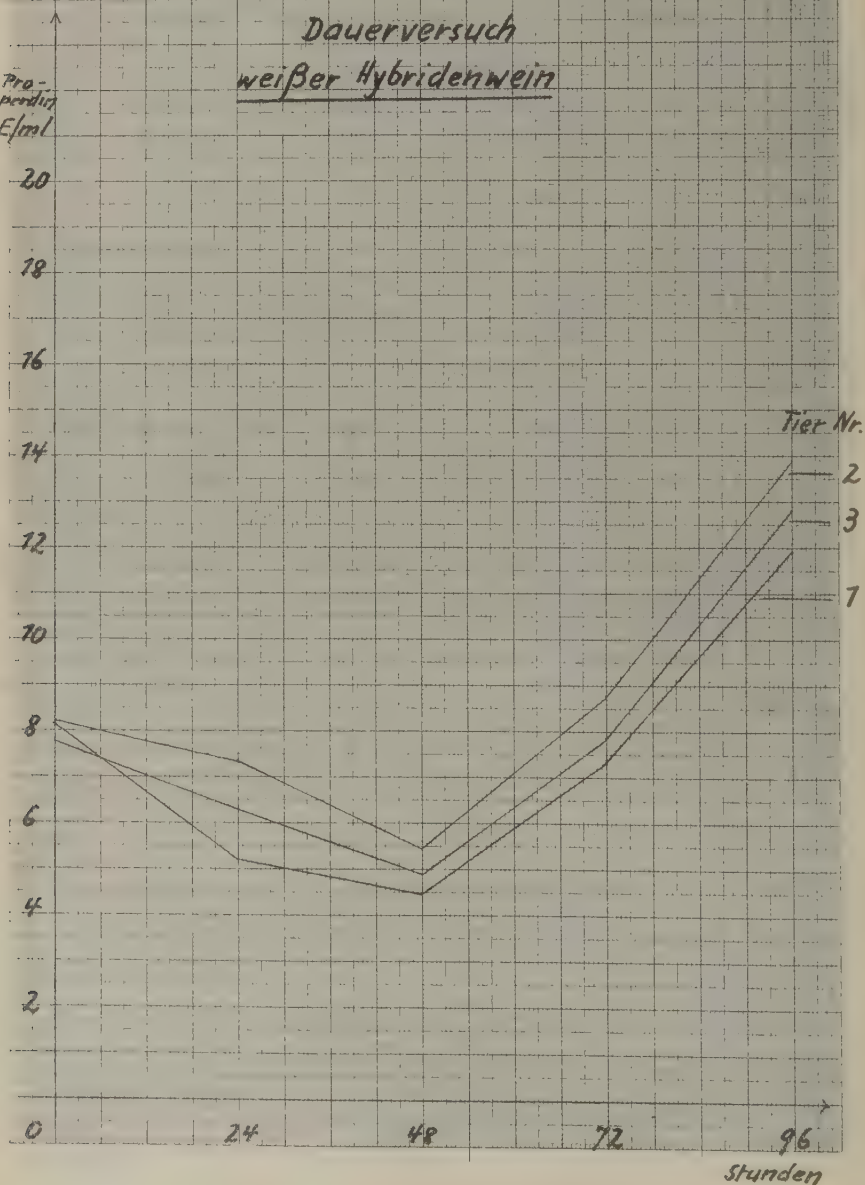
Stunden

Tier Nr.

2

3

7



166. 19

Dauerversuch
weißer Hybridenwein

Proz.
pendel
E/pml

Tier Nr.

20

18

16

14

12

10

8

6

4

2

0

24

48

72

96

Stunden

6

7

5

4

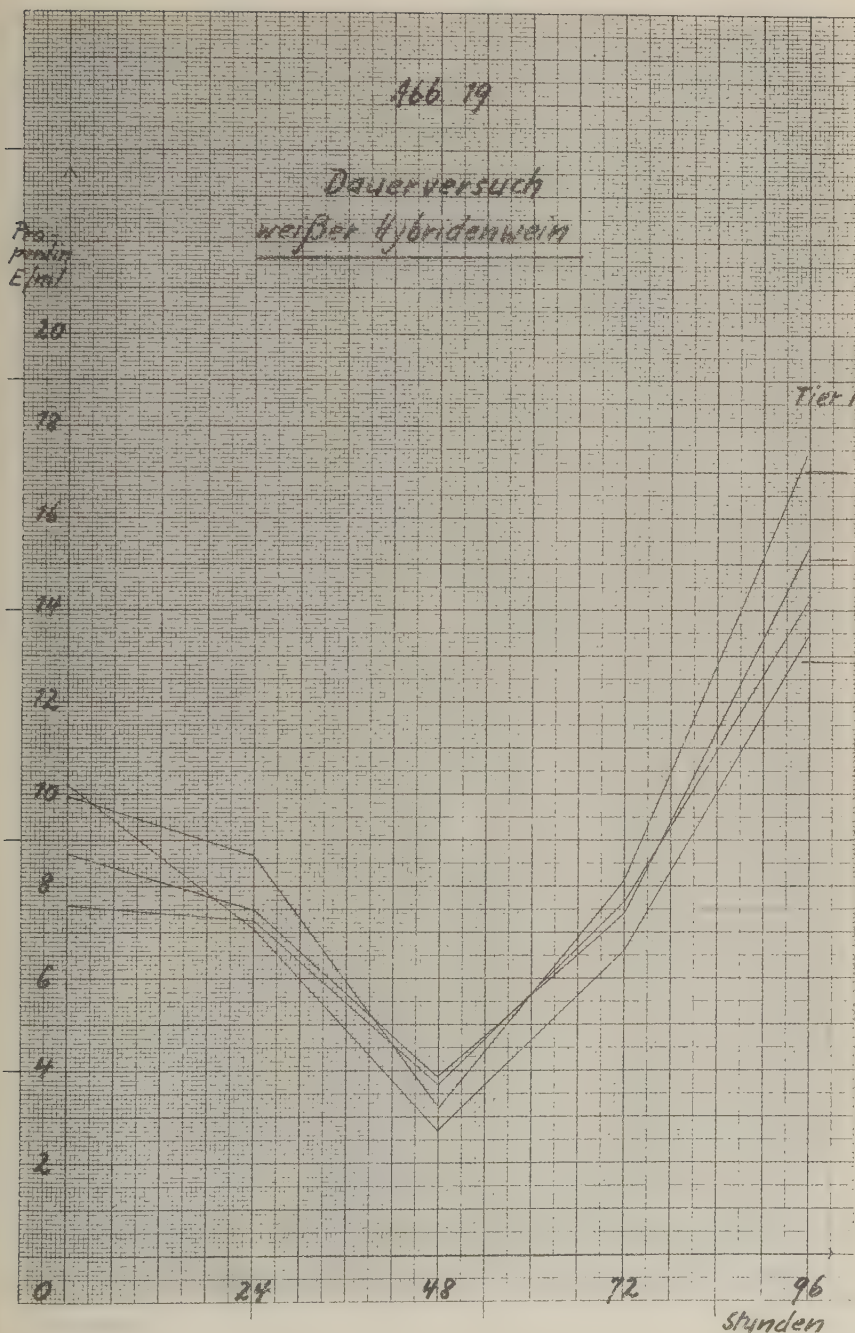


Abb. 20

Dauerversuch
roter Hyridenwein

Pro-
pedit
E/mil

Tier Nr.

20

18

16

14

12

10

8

6

4

2

0

24

48

72

96

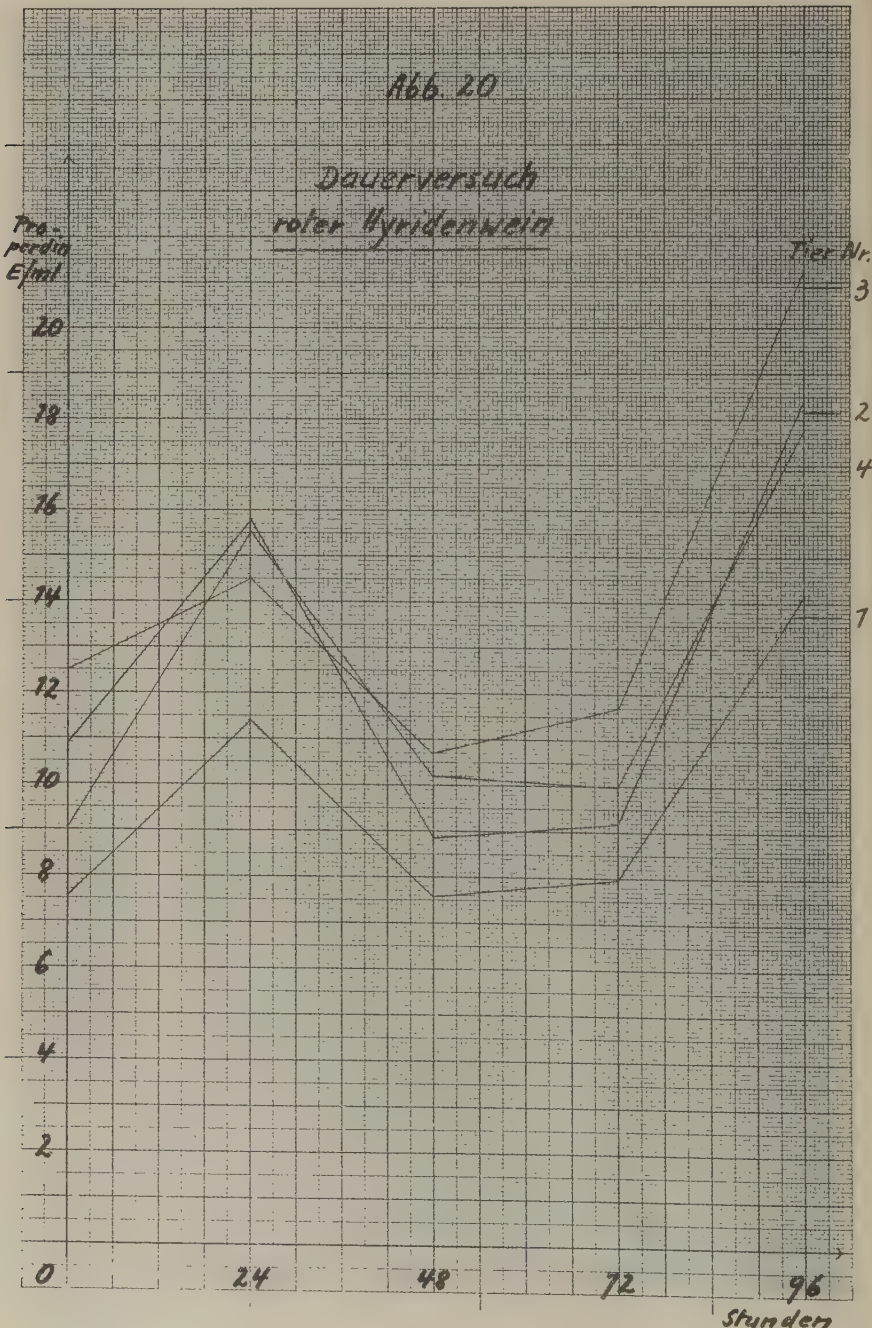
Stunden

3

2

4

7



A66. 27

Dauerversuch
roter Hybridenwein

Pro-
pandus
E/mol

Tier Nr.

6

5

7

20

18

16

14

12

10

8

6

4

2

0

24

48

72

96

Stunden

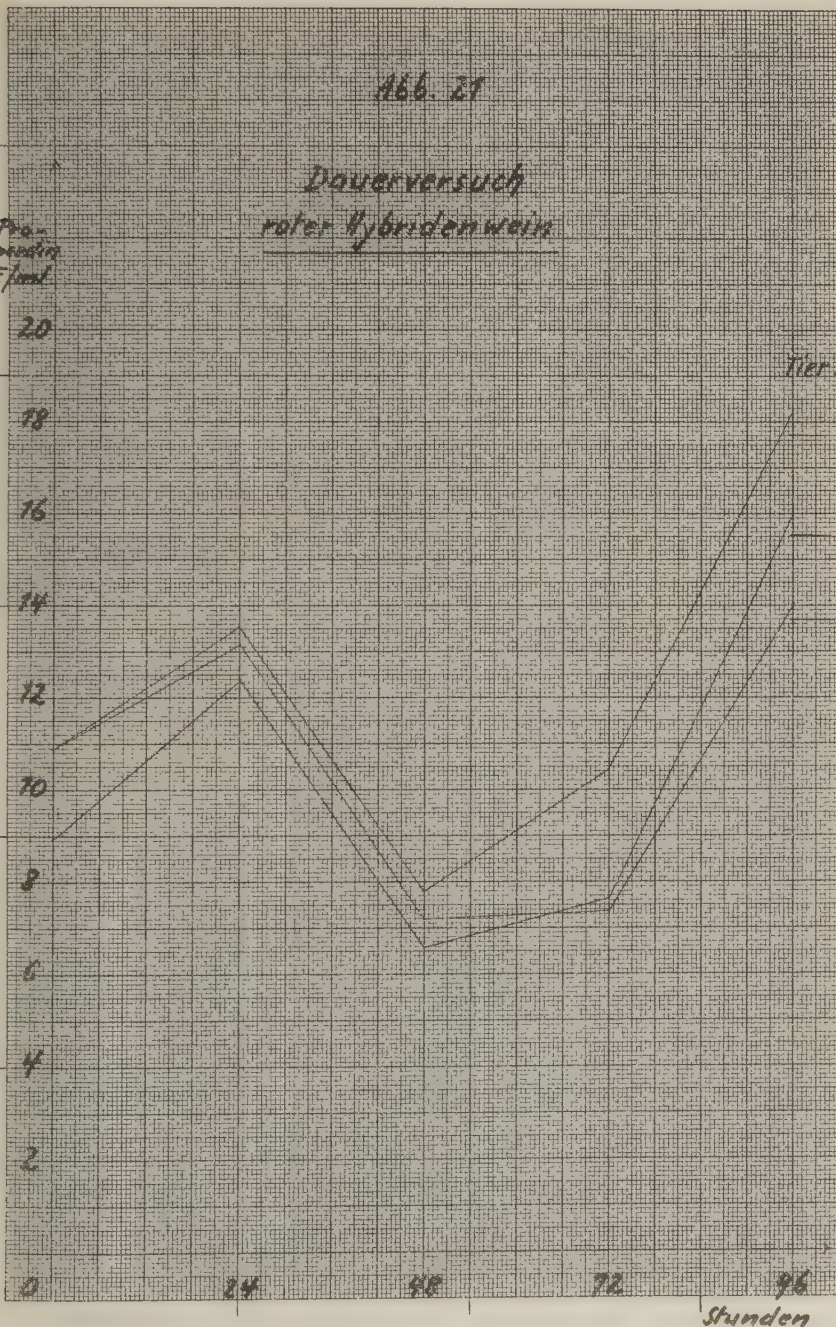


Abb. 22

Dauerversuch Zusammenfassung

Pro-
zent
E/m

20

18

16

14

12

10

8

6

4

2

0

24

48

72

96

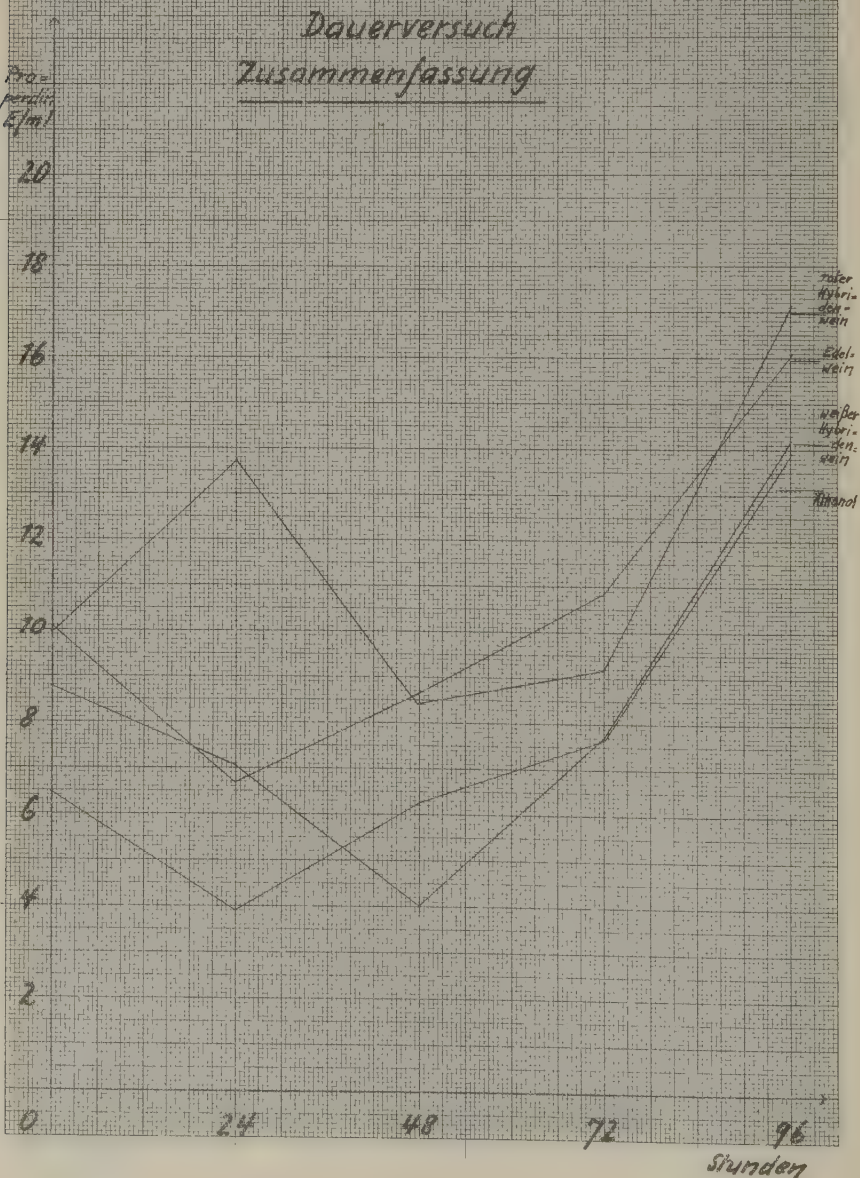
Stunden

reifer
Hybri-
den-
wein

Edel-
wein

unreifer
Hybri-
den-
wein

Rhinol



7. LITERATUR

1. ALLEWELDT, G. Europäersorten und Hybriden. Das Weinblatt, 1960, 54, 193-194.
2. ALLEWELDT, G. Weintrinkende Hühner. Die Wein-Wissenschaft, 1960, Jahrg.15, 7.
3. BARANDUN, S.
ISLIKER, H. Properdinbestimmungen bei gewebszerstörenden Krankheiten. VI. Congr. Soc. Europ. Hematol., Copenhagen, Abstr. Nr.284, 1957.
4. BARLOW, J. L.
van VUNAKIS, H.
LEVINE, L. Studies of the inactivation of phage by the properdin system. J. Immunol., 1958, 80, 339-355.
5. BREIDER, H. Hybridenweine im Tierversuch. Dt. Wein-Zeitung, 1960, 96, 148-150.
6. BREIDER, H.
REUTHER, G.
WOLF, E. Untersuchungen zum Qualitätsproblem bei Reben-Hybriden. Züchter, 1959, 29, 317-334.
7. BUCHNER, H. Über die bakterientötende Wirkung des zellfreien Blutserums. Zbl. Bakt. 1928, 27, 380.
8. BÜSING, K. H. Veränderungen des Properdinspiegels durch Echinacin. VI. Congr. Soc. Europ. Hematol., Copenhagen, 1957, 284.
9. CARLSON, S. Begriff und Wesen des Properdinsystems im Rahmen der unspezifischen Infektabwehr des Organismus. Die Med. Welt, 1960, 4.
10. DRESSLER, O. Immunchemische Studien über das Properdinsystem. Z. Immun.-Forsch., 1959, 117, 6, 450-481.
11. DRESSLER, O. Immunchemische Studien über das Properdin-Komplement-System. Klin. Wschr. 36, 16, 779-780, 1958.
12. DUBOS, R. J.
SCHAEDLER, R. W. Reversible changes in the susceptibility of mice to bacterial infections. J.exp. Med. 1956, 104, 53.
13. EHRLICH, P.
MORGENROTH, J. Über Hämoly sine. Berlin. Klin. Wschr., 1900, 37, 453, 681.

14. EICHENBERGER, E.
ISLIKER, H. Das Verhalten des Properdins nach intravenöser Injektion bakterieller Lipopolysaccharide beim Menschen. *Helv. physiol. pharmacol. Acta*, 1956, 14, C 64.
15. FINE, J.
RUTENBERG, S. H. Host resistance in hemorrhagic shock: Effect of properdin on in vitro function of phagocytes. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 1957, 95, 446.
16. FINKELSTEIN
ALLAN
SULKIN Inhibition of herpes simplex virus by normal serum: its relationship to the properdin system. *J. of Infect. Dis.*, 1959, 104, 184-192.
17. FISCHER, H.
BRÜCKNER, H.
FRITZSCHE, W.
BECKER, H. J. Über das Verhalten von Fibrinolyse, Komplement- und Properdinaktivität bei der vegetativen Gesamtschaltung. *Verh. dtsch. Ges. inn. Med.* 62, 323-327, 1956.
18. FISCHER, H.
FRITZSCHE, W.
ARGENTON, H. Die Bedeutung des Properdinsystems für den normalen und gesteigerten Blutzellabbau. *Klin. Wschr.* 36, 9, 411-417, 1958.
19. FLEMING, A. On a remarkable bacteriolytic element found in tissues and excretions. *Proc. Roy. Soc. (London)*, 93, 306, 1922.
20. FRANK, E.
FINE, J.
PILLEMER Serum properdin levels in hemorrhagic shock. *Proc. Soc. exp. Biol. and Med.* 89, 223, 1955.
21. FRENGER, W.
SCHEIFFARTH, F.
RINGELMANN, R. Über das Serumproperdin bei splenektomierten Tieren. *Med. exp.* 2, 274-277, 1960.
22. FRITZSCHE, W. Das Verhalten des Properdin- und Komplementspiegels beim experimentellen Peptonschock. *VI. Congr. Soc. Europ. Hematol. Copenhagen*, 287, 1957.
23. FRITZSCHE, W.
FISCHER, H.
SCHWICK, G.
SCHULTZE, H. E. Über die Bestimmung von Properdin und Komplementfaktoren. *Klin. Wschr.*, 36. Jahrgang, Heft 3, 1958.
24. FRITZSCHE, W.
MARTIN, H. Properdin und Haemolyse. *Klin. Wschr.* 35, 1166, 1957.
25. GRAEVENITZ, A. von Zur Bestimmung des sog. "available properdin" im menschlichen Serum. *Ärzt. Forsch.* 14, 3, 1960.

26. GRÖNROOS, P. The action of properdin on toxoplasma gondii. Ann. Med. exp. Biol. Fenn. 33, 3, 310-315, 1955.
27. GRUBER, M.
FUTAKI, K. Weitere Mitteilungen über die Resistenz gegen Milzbrand. Dtsch. med. Wschr. 33, 1588, 1907.
28. HENNIG, K. Fortschritte und Arbeiten auf dem Gebiete der Gärungsphysiologie, Weinbehandlung und Weinchemie. Dtsch. Wein-Zeitung, Jahrg. 96, 1960.
29. HERBUT, P. A.
KRAEMER, W. A. Heterologous transplantation of human tumors. Cancer Res. 16, 408, 1956.
30. HEYMANN, G. Das Properdinsystem und seine Beziehungen zur Immunität und zur Abwehrlage des Organismus. Zentralblatt f. Bakt. I. Referate, Bd. 176, 1960.
31. HEYMANN, G.
WAHLIG, H. Properdinspiegel und Antikörperbildung bei Kaninchen während der Immunisierung mit Mycobacterium tuberculosis und Salmonella typhosa. Zeitschr. Immun.-forsch. Bd. 118, 57, 1959.
32. HINZ, C. F. Properdin levels in infectious and noninfectious disease. Ann. N. Y. Acad. Sci. 66, 268, 1956.
33. HINZ, C. F.
ABRAHAM, J.
PILLEMER, L. Requirement for properdin in hemolysis of human erythrocytes treated with tannic acid. Proc. Soc. exp. Biol. and Med. 94, 230, 1957.
34. HINZ, C. F.
JORDAN, W. S.
PILLEMER, L. The properdin system and immunity. IV. The hemolysis of erythrocytes from patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. J. Clin. Invest. 35, 453, 1956.
35. HINZ, C. F.
PILLEMER, L. The requirement for the properdin system in the hemolysis of human erythrocytes treated with tannic acid. J. Clin. Invest. 34, 912, 1955.
36. HIRSCH, J. G. Phagocytin: a bactericidal substance from polymorphnuclear leucocytes. J. exp. Med. 103, 589, 1956.
37. HJORTH, P. Investigations of a thermostable bactericidal substance in human serum, demonstrated particularly in the serum of fever patients. Acta Path. Microbiol. Scand. 14, 412, 1957.

38. HUSMANN, K. H. Experimenteller Beitrag zum Problem der Inaktivierung von Bakteriophagen durch das Properdinsystem. Z.f. Hyg. 146, 89, 1959.
39. HUSMANN, K. H. Neues über die unspezifische Resistenz gegen Infektionen. Ärztl. Praxis 10, 38, 1958.
40. HUSMANN, K. H. Das Verhalten des Serumproperdins unter dem Einfluß von Wein, Äthylalkohol und schwefliger Säure. Die Weinwissenschaft 2, 1960.
- GRAEVENITZ, A. von
- SPUDAS, A.
41. ISLIKER, H. C. Das Properdinsystem. Vox sang. 1, 8, 1956.
42. ISLIKER, H. Stand und Probleme der Erforschung des Properdinsystems. Verh. dtsch. Ges. inn. Med. 62, 197, 1956.
43. ISLIKER, H. Unspezifische, humorale Abwehrmechanismen. Schweiz. Med. Wschr. 88, 6, 127, 1958.
44. ISLIKER, H. Mechanismen der Properdinaktivierung. BARANDUN, S. Helv. Physiol. et Pharm. Acta 16, C 20, 1958.
- FLÜCKIGER, H.
45. ISLIKER, H. C. Methods for the assay of properdin. LINDER, E. Vox sang. 3, 23-36, 1958.
46. KABAT, E. A. Experimental immunochemistry. Ch. C. Thomas Publ., Springfield, Ill., 1948.
- MAYER, M. M.
47. KALLENBACH, H. Über Properdinbestimmungen im Rattenserum bei schnellwachsenden Impftumoren. Z.f. ges. exp. THÜRIGEN, G. Med. 133, 304, 1960.
48. KELLER, H. Zum "turnover" des Properdins beim Kaninchen. AEBI, H. Z. Immun.-forsch. 118, 415, 1959.
- ISLIKER, H.
49. KLIEWE, H. Wein als Heilmittel. Ärztl. Praxis, Nr. XI, 19, 671-674, 1959.
50. KOCH, F. Komplementfaktoren und Properdin beim gesunden Säugling im ersten Lebensjahr. SCHULTZE, H. E. Klin. Wschr. 36, 1, 17-20, 1958.
- SCHWICK, G.
51. LANDY, M. Increase in the resistance following administration of bacterial lipopolysaccharides. Ann. N. Y. Acad. Sci. 66, 2, 292-303, 1956.
52. LANDY, M. Elevation of properdin levels in mice following administration of bacterial lipopolysaccharides. PILLEMER, L. J. exp. Med. 103, 823-833, 1956.

53. LANDY, M.
PILLEMER, L. Increased resistance to infection and accompanying alteration in properdin levels following administration of bacterial lipopolysaccharides. *J.exp. Med.* 104, 383-409, 1956.
54. LANG, W. Blutbakterizidie, Komplementfaktoren und Properdinsystem. *Münch. Med. Wschr.* 101, 1, 8-11, 1959.
55. LEON, M. A. Quantitative studies on the properdin-complement system. *J.exp. Med.* 103, 285, 1956.
56. LINDER, E. Das Properdinsystem und seine Beeinflussung durch ionisierende Strahlen. *Strahlenther.* 103, 91, 1957.
57. LINDER, E.
ISLIKER, H.
ZUPPINGER, A. Einfluß ionisierender Strahlen auf ein bakterizid wirkendes Serumeiweiß (Properdin). *Helv. physiol. pharmacol. Acta* 14, 971, 1956.
58. MAASSEN, W. Das Properdinsystem. *Z.f. Immun.-forsch. u. exp. Ther.*, Bd.119, 1960.
59. MARTIN, H. Properdin und Hämolyse. *Transact. of the 6th Congr. of the Europ. Soc. of Hematol.*, Copenhagen, 292, 1957.
60. MARTIN, H.
VOSS, J. Beeinflussung der Properdinaktivität durch Erythrozyten-Stromata. *Vox Sang.* 2, 201, 1957.
61. McNALL, E. G. Assay of properdin in biological fluids. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 94, 399, 1957.
62. NANNI, G. Opsonic activity of properdin. *Experientia* 14, 23, 1958.
63. PALM, J. E. The use of zymosan in explorations for optimum conditioning of rats for human tumor transplantation in an experimental chemotherapy. *Proc. Amer. Ass. Cancer Res.* 2, 138, 1956.
64. PENSKY, J.
WURZ, L.
PILLEMER, L.
LEPOW, I. H. The properdin system and immunity. XII. Assay, properties and partial purification of a hydrazine-sensitive serum factor (factor A) in the properdin system. *Z. Immun.-forsch.* 118, 329, 1959.
65. PILLEMER, L. The nature of the properdin system and its interactions with polysaccharide complexes. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 66, 233, 1956.

66. PILLEMER, L.
BLUM, L.
LEPOW, I. H.
WURZ, L.
TODD, E. W.
The properdin system and immunity.
III. The zymosan assay of Properdin.
J.exp. Med. 103, 1, 1956.
67. PILLEMER, L.
BLUM, L.
LEPOW, I. H.
ROSS, O. A.
TODD, E. W.
WARDLAW, A. C.
The properdin system and immunity.
I. Demonstration and isolation of a new serum
protein, properdin, and its role in immune
phenomena.
Science, 120, 279, 1954.
68. PILLEMER, L.
LANDY, M.
SHEAR, M. J.
The properdin system and immunity.
VII. Alteration in properdin levels and resistance
to infection in mice following the administration
of tissue polysaccharides.
J.exp. Med. 106, 99-110, 1957.
69. PILLEMER, L.
ROSS, O. A.
Alterations in serum properdin levels following
injection of zymosan. Science 121, Nr.3151,
S.732-733, 1955.
70. PILLEMER, L.
SCHOENBERG, M. D.
BLUM, L.
WURM, L.
Properdin system and immunity.
II. Interaction of the properdin system with poly-
saccharides. Science 122, 545, 1955.
71. PONDMAN, K. W.
PRINS, H. K.
Chromatographic isolation of properdin.
VI. Congr. Soc. Europ. Hematol. Copenhagen,
Abstr. Nr.294, 1957.
72. ROSS, O. A.
The properdin system in relation to fatal bact-
eremia following total body irradiation of la-
boratory animals. Ann. N. Y. Acad. Sci. 66, 2,
274-279, 1956.
73. ROSS, O. A.
Experimental studies of the in vivo relationship
of the properdin system to resistance to infection.
The Americ. J. of Pathol. 34, 3, 471-485, 1958.
74. ROTTINO, A.
LEVY, A. L.
Serum properdin levels in patients with Hodgkin's
disease and carcinoma. Cancer N. Y. 10, 877,
1957.
75. ROWLEY, D.
Some factors affecting the resistance of animals
to bacterial infection. Ann. N. Y. Acad. Sci. 66,
2, 304-311, 1956.

76. ROWLEY, D. The basis for lipopolysaccharide induced non-specific immunity. VI. Congr. Soc. Europ. Hematol. Copenhagen, 273, 1957.
77. SCHEIFFARTH, F.
FRENGER, W.
GÖTZ, H. Immunelektrophoretische Studien am Properdin-Zymosan- und Properdin-Inulin-Komplex. Eine Analyse des elektrophoretischen und immunologischen Verhaltens des Properdins. Klin. Wschr. 36, 367, 1958.
78. SCHEU, H. Nur Qualität ist Fortschritt. Dt. Wein-Zeitung, Jahrg. 96, 1960.
79. SCHMIDT, H. Das Properdin. Dr. D. Steinkopff-Verlag, Darmstadt 1959.
80. SCHNEIDER, R. Die bakterizide und hämolytische Wirkung der tierischen Gewebsflüssigkeiten und ihre Beziehung zu den Leukozyten. Arch. Hyg. 70, 40, 1909.
81. SCHULTZE, H. E.
SCHWICK, G. Das Properdinproblem. Blut, Z.f.d.ges. Blutforsch. Bd. IV, S. 280-290, 1958.
82. SOUTHAM, C. M.
PILLEMER, L. Serum properdin levels and cancer cell homografts in man. Proc. Soc. exp. Biol. and Med. 96, 596, 1957.
83. VOGT, E. Weinchemie und Weinanalyse. Handbuch der Kellerwirtschaft, Verlag E. Ulmer, Stuttgart 1958.
84. VUNAKIS, H. van
BARLOW, J. L.
LEVINE, L. Neutralization of bacteriophage by the properdin system. Proc. Nat. Acad. Sci. (Wash.) 42, 7, 391-394, 1956
85. WARDLAW, A. C.
BLUM, L.
PILLEMER, L. Replacement of magnesium by cobalt and manganese in the interactions of the properdin system with bacteria and with zymosan. The J. of Immun. Vol. 81, 1, 1958.
86. WARDLAW, A. C.
PILLEMER, L. The properdin system and immunity. V. The bactericidal activity of the properdin system. J. exp. Med. 103, 553, 1956.
87. WEDGWOOD, R. J.
GINSBERG, H. S.
PILLEMER, L. The properdin system and immunity. VI. The inactivation of Newcastle disease virus by the properdin system. J. exp. Med. 104, 707, 1956.
88. WESTPHAL, O. Properdin. Monatskurse für ärztl. Fortbildung. 393-397, 1957.

89. WILLERS, J. M. N.
PONDMAN, K. W.
WINKLER, K. C.
An improved properdin titration, based on the elimination of an inhibitor.
Vox sang. 4, 21-32, 1959.
90. WISS, O.
WEBER, F.
ISLIKER, H.
Die Beeinflussung des Properdingehaltes im Serum durch Pantothensäure- und Vitamin-B₁-Mangel bei der Ratte. Schweiz. Med. Wschr. 87, 47, 1430-1431, 1957.
91. WRIGHT, A. C.
DOUGLAS, S. R.
An experimental investigation of the role of the blood fluids in connection with phagocytosis.
Proc. Roy. Soc. London 73, 128, 1904.
92. ZIMMERMANN, J.
Zum Qualitätsproblem der Weine pilzresistenter Neuzüchtungen. Die Wein-Wissenschaft, Jahrg. 15, 2, 1960.
93. ZWEIGELT, F.
Die Direktträgerfrage und der europäische Weinbau. Naturwiss. Rundschau, Jahrg. 6, 5, 1953.

Besonderen Dank schulde ich meinem Referenten, Herrn Professor Dr. H. Klie we, dafür, daß er mich mit der Ausführung der Arbeit betraute. Ebenso danke ich Herrn Professor Dr. Dr. G. Gillissen und Herrn Dr. A. von Graevenitz für ihre wertvolle Beratung und Hilfe.

LEBENS LAUF

Ich, Hans Hermann Becker, wurde am 9. Dezember 1936 als Sohn des damaligen Stadtinspektors Ernst Becker und seiner Ehefrau Martha, geb. Heimbürge, in Worms geboren. Nach vier Volksschuljahren besuchte ich das Altsprachliche Gymnasium in Worms, an dem ich im Frühjahr 1957 das Abitur bestand. Seit Sommersemester 1957 studiere ich an der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz Medizin. Nach fünf vorklinischen Semestern bestand ich die ärztliche Vorprüfung. Ich bin nun im neunten Fachsemester und beabsichtige, im Herbst 1962 das Staatsexamen abzulegen.

